

DESTRUCTION DE L'ADRENALINE

Influence du cuivre
et des
facteurs de protection plasmatiques

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTÉ de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

et soutenue publiquement le 26 Novembre 1955

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Pierre VARENE

Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire

Licencié ès-Sciences

Diplômé de Sérologie et de Médecine Aéronautique

Né le 28 Octobre 1928, à JOYEUSE (Ardèche)



LYON

BOSC Frères

Imprimeurs-Editeurs

42, quai Gailleton, 42

1955

DESTRUCTION DE L'ADRENALINE
INFLUENCE DU CUIVRE
ET DES FACTEURS DE PROTECTION PLASMATIQUES

DESTRUCTION DE L'ADRENALINE

Influence du cuivre
et des
facteurs de protection plasmatiques

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTÉ de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

et soutenue publiquement le 26 Novembre 1955

Pour OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Pierre VARENE

Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire

Licencié ès-Sciences

Diplômé de Sérologie et de Médecine Aéronautique

Né le 28 Octobre 1928, à JOYEUSE (Ardèche)



LYON

BOSC Frères

Imprimeurs-Éditeurs

42, quai Gailleton, 42

1955

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen M. HERMANN. | Doyen honoraire M. J. LEPINE.
Assesseur M. J. GATE.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. NICOLAS, COLLET, CLUZET, BERARD, GUIART, PIERY, CADE, PATEL,
LEPINE, SAVY, TRILLAT, LERICHE, MOURIQUAND, MAZEL, LEULIER, GARIN.

PROFESSEURS

Clinique médicale A.	MM. FROMENT.
Clinique médicale B.	P. RAVAUULT.
Clinique chirurgicale A.	SANTY.
Clinique chirurgicale B.	WERTHEIMER.
Clinique ophtalmologique.	BONNET.
Clinique urologique.	CIBERT.
Clinique et prophylaxie de la tuberculose.	DUFOURT.
Clinique dermatologique et syphiligraphique.	GATE.
Clinique neuro-psychiatrique et hygiène mentale.	DECHAUME.
Clinique des maladies infectieuses et bactériologie.	SEDALLIAN.
Clinique de chirurgie orthopédique et chirurgie infantile.	GUILLEMINET.
Clinique gynécologique.	POLLOSSON.
Clinique obstétricale.	PIGEAUD.
Clinique stomatologique.	DUCLOS.
Clinique médicale infantile et hygiène du premier âge.	BERNHEIM.
Clinique oto-rhino-laryngologique.	MAYOUX.
Physiologie.	HERMANN.
Anatomie pathologique.	J.-F. MARTIN.
Physique biologique, radiologie et physiothérapie.	PONTHUS.
	(détaché à Beyrouth)
Thérapeutique chirurgicale et chirurgie opératoire.	ROCHET.
Chimie organique et toxicologie.	CHAMBON.
Pathologie générale et expérimentale.	JOSSERAND.
Hydrologie thérapeutique, climatologie et écologie sociale.	DELORE.
Anatomie.	GABRIELLE.
Pathologie interne.	CROIZAT.
Chimie biologique et médicale.	ENSELME.
Pathologie chirurgicale.	MALLET-GUY.
Histologie.	NOEL.
Pharmacie galénique et matière médicale.	REVOL.
Médecine du travail.	BOURRET.
Thérapeutique.	LEVRAI.
Hygiène et action sanitaire et sociale.	SOHIER.
Biologie médicale et pharmacodynamie.	JOURDAN.
Botanique et cryptogamie.	NETIEN.
Propédeutique chirurgicale.	BERTRAND.
Chimie analytique pharmaceutique.	BADINAND.
Pharmacie et pharmacologie.	DREVON.
Médecine légale et dentologie.	ROCHE.
Parasitologie et pathologie exotique.	X...



PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Obstétrique. M. BANSSILLON. | Physique biologique M. BERGER.

MAITRES DE CONFERENCES - AGREGES

Parasitologie. MM. ROMAN.	Pharmacie galénique
Parasitologie. COUDERT.	et matière médicale. MM. DORCHE.
Physiologie. CIER J.-F.	Anatomie. DUROUX.
Physiologie. CHATONNET	Pharmacie et Pharmacologie
Chimie biologique	Hygiène. CIER André.
et médicale CREYSEL R.	Anatomie pathologique BENAZET.
Bactériologie. BERTOYE A.	Chimie organique
	et Toxicologie FEROLDI.
	PERROT L.

AGREGES EN EXERCICE

Pathologie médicale . MM. GALY.	Ophtalmologie. MM. PAUFIQUE.
Pathologie médicale GONIN.	Obstétrique. MAGNIN.
Pathologie médicale GUINET.	Obstétrique. MATHIEU J.
Pathologie médicale PONT.	Obstétrique. BURTHIAULT.
Pathologie médicale VIGNON.	Oto-rhino-Laryngologie. GIGNOUX.
Pathologie médicale REVOL.	Dermato-Vénérologie THIERS.
Pathologie médicale TRAEGER.	Urologie PERRIN.
Pathologie chirurgicale MANSUY.	Neuro-Chirurgie. LECUIRE.
Pathologie chirurgicale DARGENT.	Orthopédie MARION Joseph.
Pathologie chirurgicale GUILLET.	Stomatologie FREIDEL.
Pathologie chirurgicale MARION P.	Electro-Radiologie PAPILLON.
Pathologie chirurgicale MICHAUD.	Pédiatrie et Puériculture. FRANÇOIS.
Pathologie chirurgicale JAUBERT	Thérapeutique BRETTE.
de BEAUJEU.	Maladies infectieuses. MONNET.
Pathologie chirurgicale SAUTOT.	

CHARGE DES FONCTIONS D'AGREGE

Médecine légale. M. COLIN.

CHARGES DES FONCTIONS DE MAITRE DE CONFERENCES - AGREGE

Histologie. M. DUMONT Louis. | Physique biologique. M. MORET.

LES EXAMINATEURS DE LA THESE :

**Président : M. HERMANN ; Assesseurs : MM. THIERS,
CIER J.-F. et CHATONNET**

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation.

A MES PARENTS

A MA FEMME

A MARTINE

A MES GRANDS-PARENTS

A MES BEAUX-PARENTS

A TOUS LES MIENS

A JACQUES MERLE

A MES AMIS

A NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE DOYEN HERMANN

Professeur de Physiologie

Commandeur de la Légion d'Honneur

Décoré de la Croix de Guerre

Nous voulons le remercier de l'honneur qu'il nous a fait en acceptant que ce travail soit effectué dans son laboratoire. Nous accordons une grande valeur aux deux années passées sous son éminente direction.

Nous lui sommes infiniment reconnaissant de l'intérêt qu'il nous a témoigné et de la confiance qu'il nous a accordée. Qu'il soit assuré de notre gratitude et de notre profond respect.

A NOS JUGES

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ THIERS

Médecin des Hôpitaux

Nous le remercions de la spontanéité avec laquelle il a accepté de faire partie de notre jury de thèse.

Qu'il soit assuré de notre respectueuse reconnaissance.

MONSIEUR LE DOCTEUR J.-F. CIER

Maître de Conférences Agrégé

Son dynamisme et la précision de sa pensée dans son enseignement comme dans ses travaux de laboratoire ont fait notre admiration.

Qu'il trouve ici l'expression de notre profond respect.

MONSIEUR LE DOCTEUR J. CHATONNET

Maître de Conférences Agrégé

Il a suivi pas à pas le déroulement de ce travail. Il nous a prodigué ses conseils avec une grande bienveillance. Son esprit méthodique et sa pondération nous ont aidé dans l'élaboration de cette thèse. Nous lui sommes reconnaissant de nous avoir fait profité de son expérience.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre gratitude.

A MADAME P. CHAIX

Docteur en Médecine

Docteur ès-Sciences

Au cours des deux années passées dans son laboratoire de la Faculté des Sciences, elle nous a formé aux exigences de l'expérimentation et nous avons pu apprécier sa haute valeur scientifique.

Qu'elle daigne trouver ici l'hommage de notre respectueuse reconnaissance.

A MONSIEUR LE PHARMACIEN-COLONEL ACCOYER

Pharmacien Chimiste des Hôpitaux Militaires

Nous lui sommes très reconnaissant de nous avoir réservé un accueil chaleureux. Grâce à lui, nous avons pu apporter plus de précisions dans l'élaboration de cette thèse.

Nous le prions d'accepter nos plus sincères remerciements.

A MONSIEUR LE DOCTEUR J. VIAL

Assistant au Laboratoire de Physiologie

Nous lui savons gré de sa souriante bienveillance et de l'intérêt avec lequel il a suivi notre travail. Nous le remercions des conseils avisés qu'il nous a prodigués en maintes occasions.

A MONSIEUR LE MÉDECIN-COLONEL PROTAR

Spécialiste des Hôpitaux Militaires

Chef du Service de Radiologie de l'Hôpital Desgenettes

Nous lui sommes très reconnaissant de la délicatesse qu'il a manifestée à notre égard en certaines circonstances. Qu'il soit assuré de toute notre gratitude.

A MONSIEUR LE MÉDECIN-COMMANDANT BOUCHER

Spécialiste des Hôpitaux Militaires

Chef du Service de Phthisiologie de l'Hôpital Desgenettes

Nous le remercions de l'accueil qu'il nous a réservé et de l'enseignement qu'il nous a dispensé. Il a fait preuve à notre égard dans des circonstances particulières d'une bienveillance qui nous a vivement touché.

A MONSIEUR LE MÉDECIN-CAPITAINE ROUMAGOUX

Assistant des Hôpitaux Militaires

Il a su nous faire profiter de son expérience clinique. Qu'il trouve ici l'expression de toute l'estime qu'il a su nous inspirer.

A MONSIEUR LE MÉDECIN-GÉNÉRAL GIRAUD
Professeur Agrégé du Val-de-Grâce
Chirurgien des Hôpitaux Militaires
Directeur de l'Ecole du Service de Santé Militaire
et de l'Hôpital Militaire d'Instruction Desgenettes

A NOS MAÎTRES DES HÔPITAUX CIVILS ET MILITAIRES
ET DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

A NOS MAÎTRES DE LA FACULTÉ DES SCIENCES

A NOS CAMARADES

AU PERSONNEL DU LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DU SERVICE DE PHTISIOLOGIE DE L'HÔPITAL DESGENETTES.

INTRODUCTION

Si la découverte des capsules surrénales par EUSTACHI remonte à plus de quatre siècles (1543), c'est en 1895 que OLIVER et SCHAEFFER, après les travaux de ADDISON, VULPIAN, BROWN SEQUARD, LANGLOIS, mirent en évidence l'effet vasomoteur des extraits surrénaux. Ils donnèrent ainsi le départ à une série de recherches qui devaient aboutir, en moins de dix ans, à l'isolement de la substance active par TAKAMINE et ALDRICH en 1901, puis à la connaissance de la formule chimique par G. BERTRAND en 1904 ; la même année, STOLZ réalisait la synthèse de l'adrénaline.

Depuis cette époque, de nombreux auteurs, avec des fortunes diverses, se sont penchés sur les innombrables problèmes posés par l'origine, le transport, les effecteurs, le mode d'action, la destruction de cette hormone.

Son étude est complexe ; il n'est pour s'en persuader que de voir le nombre de publications contradictoires auxquelles elle a donné lieu. En effet, en plus des difficultés inhérentes à sa qualité d'hormone et liées essentiellement à la faible concentration de produit actif dans les tissus, l'expérimentateur se heurte à une activité physiologique intense et diverse, supportée par une formule chimique particulièrement labile. Une solution aqueuse abandonnée à l'air, sans précautions particulières, voit rapidement disparaître ses propriétés physiologiques en même temps qu'elle se colore en rouge.

Quel est le sort de ce même produit dans le torrent circulatoire ? La brièveté de son action suggère une destruction rapide. Il y a lieu cependant de distinguer deux problèmes : celui de la destruction proprement dite et celui de la disparition de l'activité physiologique. En effet il est possible, et de nombreux auteurs l'ont soutenu, que l'adrénaline persiste à l'état actif dans la circulation, alors que ses effets vasomoteurs ont disparu.

Laissant de côté le problème de la disparition éventuelle de réactivité des vaisseaux, nous avons en vue uniquement le phénomène de la disparition des effets, due à la destruction proprement dite de l'hormone. Certaines structures ont-elles le privilège d'opérer cette destruction, ou de mettre en réserve l'hormone pour une élimination ultérieure ? Aucun de ces points n'est complètement résolu.

Depuis longtemps on a constaté que, *in vitro*, l'adrénaline se détruisait beaucoup plus lentement dans le sang qu'en solution aqueuse. L'objet principal de l'étude qui va suivre a été de découvrir si un groupe de substances plasmatiques, ou une de ces substances, avait le privilège de cette protection et, partant, sous quelle forme l'adrénaline était véhiculée dans le sang de la surrénale aux organes effecteurs.

Après un court rappel des idées admises sur la destruction de l'adrénaline « *in vivo* », nous étudierons une réaction type de destruction de l'hormone, celle qui se produit en présence de cuivre, puis l'inhibition de cette réaction par le plasma et par ses diverses fractions. Nous terminerons par un essai d'interprétation des résultats.

PREMIERE PARTIE

DESTRUCTION DE L'ADRENALINE IN VIVO

Trois hypothèses principales ont été émises quant à la destruction de l'adrénaline dans l'organisme :

Par la voie des phénolases, la destruction portant d'abord sur la fonction orthodiphénol, serait suivie de la cyclisation de la chaîne latérale en donnant l'adrénochrome.

— Par la voie des aminoxydases, la chaîne latérale serait atteinte la première au niveau de l'atome de carbone situé en α par rapport à l'azote, en donnant de l'éthylamine et un aldéhyde cyclique.

— Enfin, utilisant une voie classique de détoxication, l'organisme pourrait inactiver l'adrénaline en la conjugant à un autre corps, et l'éliminer ainsi.

1. — Destruction par des phénolases*.

L'orthopolyphénoloxydase, encore appelée catécholoxydase, est un métalloenzyme dont le groupement prosthétique est le cuivre (Kubowitz [108]). Ce ferment transforme les orthophénols en orthoquinones correspondantes. Szent-Gyorgyi et ses collaborateurs [157, 158] ont mis en évidence son mécanisme d'action : il y aurait, après perte de deux ions H par le diphénol, formation d'un complexe entre l'ion diphénolique et le métal. Ce complexe fixerait l'oxygène moléculaire avant de

(*) Dans ce cas l'adrénaline passe par les mêmes stades que ceux décrits pour ses solutions aqueuses sous le nom d'autoxydation spontanée, par Gunn et Harrisson [90], Lœw [115], Maiweg [118], Røst [142], Vacek [164 à 166], Kendall [98], Lopez [116], Kisch et Leibowitz [99, 100], Weinstein et Manning [172], Florence et Schapira [75, 76].

se dissocier en libérant l'orthoquinone. Dans le cas particulier de l'adrénaline, cet enzyme conduit au stade de l'adrénaline-quinone ; par suite d'un réarrangement intramoléculaire, la chaîne latérale se cyclise pour donner l'adrénochrome. L'adrénochrome se transforme ultérieurement par polymérisation en composés bruns de structure mal définie. La catécholoxydase est inhibée par CNH et H_2S (Keilin [97]) par le résorcinol, le phloroglucinol, le paranitrophénol, l'alphanaphtol, la dyméthylaniline, l'acide thioacétique, la cystéine, le salicylaldéhyde, et aussi par toutes les substances formant des complexes avec les orthoquinones, alors que celles-ci sont accélératrices (Richter [135]).

Ce processus de destruction de l'adrénaline a fait l'objet d'importantes études. Dès 1932, Schutz [151, 152] soupçonne dans les extraits de foie de rat la présence d'une substance catalysant la destruction de l'adrénaline en un produit rouge, capable d'agir à très faible concentration et inactivable par la chaleur.

Après les travaux de Green et Richter [86] sur l'adrénochrome, Blaschko et Schlossmann [33, 34] étudient, à l'appareil de Warbourg, l'oxydation de l'adrénaline en présence de catécholoxydase de psallote. Ils décrivent deux phases à cette réaction : une phase rapide, aboutissant à une couleur rouge, correspondant à la consommation de deux atomes d'oxygène par molécule d'adrénaline et une phase lente, caractérisée par la couleur brune des mélanines, nécessitant quatre à six atomes d'oxygène par molécule d'adrénaline. L'activité biologique est nulle à la fin de la phase lente. De leur côté, Beyer et ses élèves [25, 26], à l'issue d'une série de travaux portant sur diverses phénylpropylamines, concluent à l'action préférentielle de la phénoloxydase sur les dérivés présentant des groupements phénoliques. Derouaux [61, 62], en 1943, fait une étude photométrique du même phénomène en présence de phénoloxydase de champignon. En 1946, Cohen [52] met en évidence l'oxo-adrénochrome produit de dégradation de l'adrénochrome, capable par polymérisation de donner des mélanines.

Quelle est in vivo la traduction de ces études effectuées in vitro ? Un écueil important pour cette hypothèse réside dans le fait que, si l'on exclut les travaux de Pugh [134], jamais la catécholoxydase, qui est très répandue dans le règne végétal,

n'a pu être mise en évidence chez les vertébrés (Bhagvat et Richter, Florkin et Duchateau).

Cependant, Bacq [11, 12], effectuant des recherches sur l'adrénoxine, corps hypotenseur se situant dans l'évolution de l'oxydation entre l'adrénochrome et les mélanines, constate que la formation de ce corps est inhibée, en présence de tissus animaux, par CNH. Ce même auteur, avec ses collaborateurs [13 à 16, 72, 73] constate, après injection intraveineuse de doses massives d'adrénaline au chien (0,5 à 3 mg./kg), l'excrétion urinaire d'adrénaline libre (pendant 1 heure), de sulfoconjugués et d'un corps indolique (pendant 8 à 9 heures). Avec Florkin, ce même auteur constate que l'injection de corps voisins de l'adrénaline (épinine et adrénalone) ne provoque aucune modification du rapport urinaire S minéral/S ester, alors que l'urine se charge en acides phénoliques. Dans les mêmes conditions, une injection de catéchol provoque une chute nette du rapport S minéral/S ester [77]. Ces faits amènent ces auteurs à conclure que dans l'organisme, l'adrénaline est détruite par la voie de l'adrénochrome.

Signalons toutefois que la catécholoxydase ne serait pas le seul ferment en cause ; un ferment extrait du cœur et du muscle, insensible à CNH, et la catéchol-indophénoloxydase pouvant réaliser la même transformation d'après Green et Richter [86]. Philpot [132] admet aussi que la cytochrome-oxydase puisse jouer un rôle.

2. — Destruction par l'aminoxydase.

Les aminoxydases étudiées par Krebs en 1935 entrent dans le groupe des hydrokinases aérobies. Elles activent l'hydrogène qu'elles cèdent ensuite à l'oxygène moléculaire, seul accepteur dans ce cas-là. Leur constitution ne comporte pas de métal, mais un ferment jaune, l'alloxazine-adénine-dinucléotide. La portion active de ce ferment est la riboflavine ou vitamine B2. L'amine est transformée en imine par perte de 2 H qui se fixent sur le ferment. Par hydrolyse spontanée, l'imine libère une molécule d'ammoniaque et un radical aldéhyde, alors que le ferment réduit s'oxyde en cédant son hydrogène à l'oxygène moléculaire.

laire. L'eau oxygénée ainsi formée est détruite ultérieurement par une catalase. Ce ferment est inhibé par le bleu de méthylène, la cocaïne (Philpot [133]), l'hydrazide de l'acide isonicotinique (Zeller et Barsky [178]), l'urée et certains antipaludéens de synthèse, telles l'atébrine et la paludrine. L'action de l'éphédrine (Heim [91]) est discutée, certains auteurs lui faisant jouer le même rôle que l'ésérine par rapport à l'acétylcholine (Gaddum et Kwiatkowski [82], Cahen [43]).

L'action de l'aminooxydase a été étudiée *in vitro* par Blaschko, Richter, Schlossmann, Bhagvat, Kohn, Philpot* ; ces auteurs constatent la destruction de l'hormone en présence d'extrait de foie. Cette destruction s'accompagne de l'absorption d'une demi-molécule d'oxygène par molécule d'adrénaline et libère, dans le milieu, de l'ammoniaque, un radical aldéhyde ou l'acide protocatéchique, son produit de dégradation, et de l'eau oxygénée. Les réactions ne sont pas troublées par la présence de HCN, de CO, ou de glutathion réduit. Cependant, les auteurs qui identifient ce ferment avec la tyramine-oxydase n'admettent pas qu'il puisse jouer un rôle important *in vivo*, du fait de la faible vitesse de destruction de l'adrénaline. Cette aminooxydase aurait une répartition ubiquitaire (Florence et Schapira [74] ; Bhagvat, Blaschko et Richter [27]).

Sur l'animal entier, Weinstein et Manning [173] trouvent dans l'urine du lapin auquel on a injecté de l'adrénaline, un corps cristallisable ayant les réactions de l'acide protocatéchique. Philpot et Cantoni [131], constatant que le bleu de méthylène augmente l'activité de l'adrénaline injectée dans la veine porte, concluent à une destruction de l'hormone dans le foie par l'aminooxydase. Richter [137] en étudiant la forme d'excrétion des diverses amines administrées à l'animal par injection ou ingestion, constatent que les corps du type $R-CH_2-NH_2$ ne sont jamais éliminés tels quels dans l'urine (la phényléthylamine est éliminée sous forme d'acide phénylacétique), alors que les amines substituées en α par rapport à l'azote (ex. éphédrine) sont éliminées sans modification de formule. Ces différences, liées au fait que *in vitro* les amines du premier groupe sont détruites par l'aminooxydase alors que celles du deuxième groupe ne le sont pas et que, *in vivo*, l'action des amines du

(*) [29 à 32, 104, 132, 133, 136].

deuxième groupe est beaucoup plus prolongée que celle des amines du premier groupe, amènent l'auteur à conclure à la réalité de l'action de l'aminooxydase sur les phénylaminés.

Récemment, Schayer et ses collaborateurs [146 à 150] se sont attachés au problème de la destruction de l'adrénaline en utilisant des molécules marquées par C^{14} en α , β ou méthyl. L'urine des animaux est soumise à l'analyse chromatographique. D'après l'étude des différents corps excrétés, supportant ou non la radioactivité suivant la position du C^{14} dans la molécule d'adrénaline, ils concluent à la réalité de la destruction par désamination. Ils ne trouvent jamais d'acide protocatéchique dans l'urine, mais l'acide 3-1 dihydroxymandélique qui serait le métabolite principal. La méthylamine, trouvée dans les expériences *in vitro*, serait excrétée sous forme de CO_2 pour la plus grande part. Ils ne trouvent jamais d'adrénochrome ou de dérivés de celui-ci, mais pensent cependant qu'une infime partie de l'adrénaline doit être détruite par la voie de l'adrénochrome, l'importance de ce corps dans nombre de phénomènes enzymatiques étant très grande.

Le lieu de destruction de l'adrénaline a fait l'objet d'un certain nombre de recherches. Elles semblent apporter dans leur ensemble des arguments aux partisans de la théorie des aminooxydases : en effet, l'inactivité tensionnelle de l'injection portale d'adrénaline souvent constatée est en faveur d'une inactivation hépatique puissante [47]. Or, le foie est très riche en aminooxydases. Effectuant en somme la contre-épreuve de ces expériences, Lemarchands et Tanche [114], injectant de l'adrénaline à des chiens hépatectomisés, ne constatent pas, en général, de modification à l'aspect de la courbe d'hypertension artérielle, si ce n'est parfois une légère augmentation de surface, sans augmentation de hauteur. Le foie n'est donc pas le seul organe de destruction de l'adrénaline et, le serait-il, que la complexité de son équipement enzymatique ne permettrait pas de tirer de conclusions formelles. En particulier, c'est dans le foie que se déroule le processus de détoxication que nous allons envisager maintenant.

3. — Destruction par conjugaison.

La conjugaison est un processus normal de détoxification, utilisé largement par l'organisme. Les substances agressives, rendues ainsi inoffensives, sont éliminées par les différents émonctoires, principalement l'urine. Le foie est le principal, sinon le seul organe responsable de la détoxification. Les voies les mieux connues utilisent la conjugaison avec SO_4H_2 , le glyco-colle, l'acide glycuronique.

Richter et ses collaborateurs [138 à 140] ont consacré un certain nombre de travaux à ce problème. Ils concluent, après expérience *in vivo*, que l'adrénaline n'a pas une voie particulière de destruction dans l'organisme. Elle serait détruite et éliminée comme les autres phénols par conjugaison. Ce mécanisme expliquerait, d'après ces auteurs, le rôle joué par certains diphénols qui renforceraient l'action de l'adrénaline par compétition au niveau des systèmes éliminateurs. D'après Torda [162], la cocaïne jouerait le même rôle. Bayer et Shapiro [26] signalent la présence dans l'urine d'esters inactifs de l'adrénaline. Deichman [58] trouve chez le lapin une augmentation des sulfates organiques urinaires après injection d'adrénaline, alors que Dodgson [64], après ingestion chez le même animal, isole de l'urine un glycurono-conjugué. Clark [50] confirme les dires de celui-ci, par recherche de l'adrénaline conjuguée chez un malade hypertendu et après ingestion d'adrénaline chez le lapin. Bacq [14] accorde une place importante à la sulfoconjugaison qui, pour Schayer [147], serait un processus de détoxification n'entrant en jeu qu'après ingestion d'adrénaline. En effet, cet auteur ne trouve jamais de conjugués, chez le rat, après injection sous-cutanée ou intra-veineuse d'adrénaline.

Dans l'urine humaine, Holtz et ses collaborateurs [96] sont parvenus à mettre en évidence par hydrolyse un corps à action hypertensive, qu'ils nomment urosympathine et qui serait un mélange d'oxytyramine, adrénaline et artérénol. L'excrétion de ce mélange, qui, exprimé en adrénaline, correspondrait à 100 ou 150 γ par jour, est augmentée par le travail musculaire et dans l'hypertension artérielle essentielle. Euler et ses collaborateurs [70, 71], effectuant des recherches sur la nature des

corps supportant l'activité hypertensive des hydrolysats acides d'urine, concluent à la prédominance de l'artérérol. Kroneberg et Schuman [107] arrivent aux mêmes conclusions.

Engel et Euler [68] trouvent dans deux cas de phéochromocytome une augmentation notable de l'activité hypertensive des hydrolysats d'urine. Dernièrement, dans le Laboratoire de Physiologie de la Faculté de Médecine de Lyon, H. Hermann, J. Vial et J. Chatonnet ont pu mettre en évidence et doser, par l'injection au chien à moelle détruite, l'adrénaline et l'artérérol libres dans les urines de malades porteurs d'une tumeur surrénale.

Au terme de cette revue, sur les différentes conceptions que les auteurs se font de la destruction de l'adrénaline *in vivo*, il est difficile de conclure. Certes, les expériences *in vitro* sont souvent criticables, mais souvent aussi l'expérimentation *in vivo*, où des animaux d'espèces diverses sont soumis à des doses de produit hors de proportion avec les quantités physiologiques, n'est pas plus valable. Quoi qu'il en soit, il semble que l'on puisse admettre comme certaine l'inactivation et l'élimination des hormones surrénales par conjugaison. Les deux autres voies de destruction jouent peut-être un certain rôle, mais les expériences invoquées pour le démontrer sont plutôt en rapport avec la toxicologie des amines hypertensives qu'avec la physiologie. Quant à l'élimination urinaire en quantité notable d'adrénaline et d'artérérol actifs, et à l'état libre, elle n'existe certainement que de façon accidentelle dans les cas où l'on rencontre dans le sang une quantité considérable d'hormones circulantes (*).

* *

Quel que soit le processus en cause, l'adrénaline ne se détruit pas dans le sang. D'autre part, le plasma exerce un fort pouvoir inhibiteur sur la réaction de destruction de l'adrénaline qu'il est banal de constater *in vitro*. Pour étudier ce pouvoir protecteur, deux méthodes sont possibles :

(*) Il est évidemment important de distinguer cette activité hypertensive de l'urine de celle que l'on y trouve parfois, en dehors de tout phénomène pathologique, et qui semble en rapport avec le catabolisme protidique [95].

— ou bien ajouter, un à un, à la solution des produits existants dans le sang ou le plasma (ac. ascorbique, tel ou tel acide aminé, glutathion) ;

— ou bien, en partant du plasma, éliminer une à une les fractions inactives pour isoler en définitive le ou les corps actifs. C'est la méthode que nous avons choisie.

Pour cela, après la mise au point d'une réaction simple, nous étudions ses modifications en présence de plasma et fractions plasmatiques.

DEUXIEME PARTIE

OXYDATION DE L'ADRENALINE ET DE L'ARTERENOL EN PRESENCE DU CUIVRE IN VITRO

Pour l'étude ultérieure de la protection in vitro et du transport de l'adrénaline in vivo, nous avons été amenés à rechercher, in vitro, des réactions simples d'oxydation de l'adrénaline et de l'artérénol, pouvant nous servir de témoins. Nous utilisons la catalyse de l'oxydation par le cuivre.

Un certain nombre d'auteurs se sont penchés sur le problème de l'oxydation de l'adrénaline en présence des ions métalliques :

— Welch [174] montre par des mesures manométriques que la consommation d'oxygène est proportionnelle à l'inactivation de l'adrénaline et est augmentée par la présence de traces de fer. Le fer accélérerait la première phase de l'oxydation et retarderait la dernière partie.

— Baur et Obrecht [21, 125] trouvent, suivant la concentration d'ions métalliques lourds utilisés, des accélérations et des inhibitions. Ainsi, pour le cuivre, Obrecht trouve une inhibition pour les faibles concentrations jusqu'à 10^{-4} M/L et à partir de 10^{-3} M/L, une accélération nette.

— Bhagvat et Richter [28] ne trouvent pas de phénomènes d'inhibition, à part pour le manganèse. Les autres métaux, Fe, Cu, Ni, Co, sont accélérateurs.

— Lavollay [111], ainsi que Bountjatjan et Mkhitarjan [37] constatent toujours un pouvoir catalytique positif du cuivre sur l'oxydation de l'adrénaline.

— Bouvet [38] étudiant le mécanisme de l'action des ions Cu^{++} et Hg^{++} sur l'oxydation de l'adrénaline, est conduit à admettre que cette réaction est, au moins en partie, d'ordre

catalytique en présence de cuivre. La vitesse de réaction, qui diminue en milieu acide ainsi qu'en présence d'une forte concentration en adrénaline, est accélérée par l'augmentation de la teneur en cuivre et surtout par la présence d'halogénures. L'oxydation de l'adrénaline en présence de cuivre comporterait la formation d'un complexe adrénaline-cuivre.

— Madame P. Chaix [45, 46] étudie avec précision, par la méthode manométrique de Warburg, l'absorption d'oxygène par l'adrénaline en présence de différents ions métalliques. Elle déduit de ses recherches que l'adrénaline n'est pas une substance auto-oxydable. La réaction dépendrait de la formation d'un complexe adrénaline-métal auto-oxydable. Dans le cas de la catalyse par le cuivre, la dégradation oxydative totale de l'adrénaline, conduisant à l'apparition de la coloration brune des mélanines, correspondrait à la fixation de trois molécules d'oxygène par molécule d'adrénaline. En solution tampon bicarbonaté, l'oxydation s'arrête au stade adrénochrome rouge après consommation d'une molécule d'oxygène par molécule d'adrénaline.

TRAVAIL PERSONNEL

Moyens d'étude.

Pour suivre, au cours de nos recherches, l'évolution dans le temps de l'oxydation de l'adrénaline, nous avons utilisé simultanément deux méthodes :

— l'une biologique et quantitative, portant sur l'adrénaline elle-même ;

— l'autre colorimétrique, portant sur les quinones colorées en rouge issues de la molécule d'adrénaline par dégradation oxydative.

Les dosages biologiques sont effectués, par rapport à un témoin de titre connu, par la mesure du clocher d'hypertension artérielle provoquée par l'injection intraveineuse d'adrénaline au chien à moelle détruite, atropiné, chloralosé, technique clas-

sique, qui a fait l'objet de nombreux travaux de la part de H. Hermann et ses collaborateurs [92, 93, 94, 122]. Le clocher hypertensif provoqué par l'injection de la solution à doser doit être égal en hauteur, et son allure de même aspect général que les deux témoins qui l'encadrent.

Cette méthode de dosage nous est apparue à l'usage extrêmement satisfaisante, tant par sa sensibilité qui est, en règle, une dizaine de fois plus grande que la sensibilité du chien entier à moelle non détruite, que par la facilité de son utilisation. Les manipulations se limitent à des injections intra-veineuses au niveau de la saphène. Elles sont effectuées au rythme d'une toutes les deux ou trois minutes suivant la dose optimale choisie pour réaliser une hypertension de quatre à huit centimètres de mercure (1 à 3 γ pour un chien d'une douzaine de kg), ce qui représente la possibilité de réaliser un nombre considérable de dosages au cours de la demi-journée durant laquelle le même animal est utilisé. La surveillance de la préparation ne comporte que le contrôle de la température rectale et de l'anesthésie. Le seul point délicat de cette méthode est la destruction médullaire qui doit être conduite par des mains habiles et entraînées, avec un matériel conçu spécialement pour cet usage.

L'estimation colorimétrique est effectuée à l'électrophotomètre de P. Meunier (méthode utilisée par de nombreux auteurs, en particulier Lavollay, et Clark et Geissman [51]). Nous employons à cet effet un écran bleu-vert, dont la longueur d'onde de transmission maximum est 4.900 Å. Le choix de cet écran nous a été dicté par le spectre de l'adréochrome, qui présente dans le visible un maximum d'absorption à 4.850 Å. Pour différencier colorimétriquement les mélanines de l'adrénochrome, nous avons parfois utilisé l'écran bleu à 4.300 Å, en effet, bien que n'ayant pas un spectre très défini, ces substances absorbent beaucoup plus sur cette longueur d'onde que l'adrénochrome (cf. fig. n° 1).

L'utilisation de ces deux méthodes nous permet de considérer simultanément deux aspects du même phénomène, en nous appuyant sur les deux corps les mieux connus de l'évolution étudiée : l'adrénaline et l'adrénochrome. Celui-ci étant inactif au point de vue tensionnel, l'étude simultanée des courbes de disparition d'activité hypertensive et d'augmentation de coloration, montrerait éventuellement la présence de corps ne

correspondant pas aux caractéristiques biologiques et colorimétriques, de l'adrénaline ou de l'adrénochrome (nous pensons particulièrement aux corps colorés à propriétés vasomotrices) (Ruiz Gijon [143]).

Notre désir de nous rapprocher le plus possible des conditions physiologiques nous a conduit à utiliser des solutions très diluées (10^{-5} à 10^{-6} M/L). Une telle concentration permet de bonnes mesures photométriques, ainsi qu'un dosage très précis sur le chien sans moelle, les prises d'essai étant de 0,5 à 5 cm².

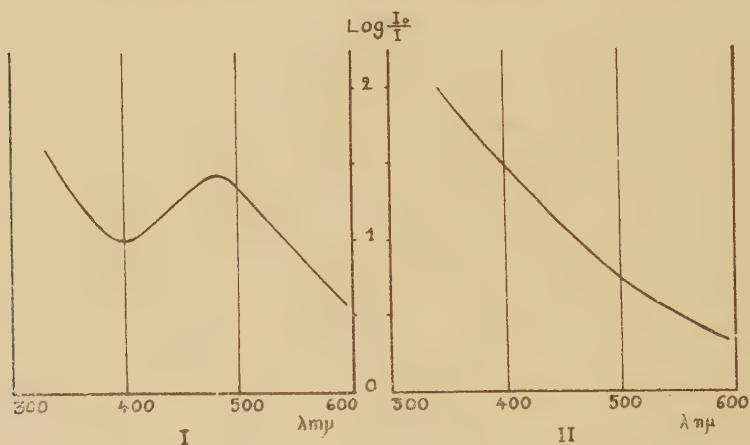


FIGURE N° 1 (d'après P. Chaix et D. Gautheron)

Spectre des dérivés de l'oxydation de l'adrénaline obtenu en tampon phosphate de potassium

Courbe I. — Après consommation d'une molécule d'oxygène par molécule d'adrénaline (adrénochrome).

Courbe II. — Après consommation de trois molécules d'oxygène par molécule d'adrénaline (mélanines).

L'utilisation de solutions très diluées, de même que l'observation journalière de la labilité des solutions d'adrénaline à pH neutre, exigent un certain nombre de conditions :

1° Utilisation de produits chimiquement purs, toutes les solutions se faisant en eau bidistillée dans des appareils en pyrex.

2° Utilisation d'un matériel parfaitement propre, le nettoyage devant éliminer avant tout toutes traces d'ions métalliques et

de produits organiques. Nous utilisons à cet effet une verrerie en pyrex nettoyée pendant 24 heures au mélange sulfo-nitrique concentré, lavée ensuite à plusieurs reprises par eau distillée et bidistillée, et finalement séchée au four. La moindre trace suspecte sur le matériel amène son écart au moment de l'emploi.

3° Réaction se déroulant entièrement à l'obscurité pour éliminer l'influence de la lumière étudiée par J. Chatonnet et J. Vial [47, 48].

Technique.

Les réactions sont effectuées dans des récipients en pyrex en forme d'Erlenmeyer de 500 cc. Les solutions contenant sérum physiologique, tampon, sulfate de cuivre, sont mises dans un bain-marie réglé à 37° jusqu'à équilibre thermique ; à ce moment, la solution d'adrénaline préalablement portée à 37° est ajoutée à la solution précédente sous un volume de 1 cc., marquant ainsi le temps 0 de la réaction. Le volume total est de 100 cc. Le pH est contrôlé électrométriquement à la fin de chaque réaction.

Produits utilisés.

L'adrénaline est employée sous forme de bitartrate lévogyre.

La solution tampon-phosphate est préparée à partir d'une solution d'acide phosphorique à 85 % et d'une solution de Soude 3.2 M obtenue extemporanément, jusqu'à l'obtention d'une solution de concentration moléculaire à pH désiré (mesure électrométrique).

SO_4Cu — ClNa .

RESULTATS

1. — Inactivation d'une solution d'adrénaline en présence d'ions Cu.

La réaction type d'oxydation de l'adrénaline en présence de Cu est réalisée dans un milieu dont la composition est la suivante :

- Adrénaline $1,1 \cdot 10^{-5}$ M
- SO_4Cu $5,5 \cdot 10^{-6}$ M
- Tampon phosphate Na 0,05 M pH 7,1
- Sérum physiologique (0,9 % ClNa) volume total 100 cc.
- La réaction se déroule à 37° à l'obscurité.

Les mesures photométriques permettent de construire une courbe qui peut être décomposée en trois parties (Cf. figure 2, courbe n° 1).

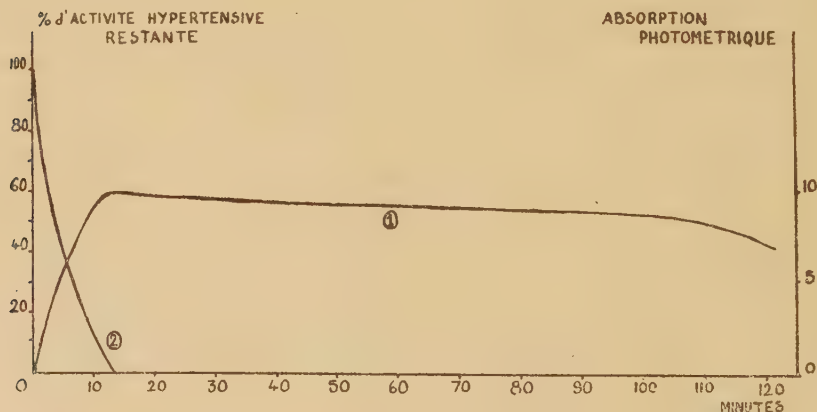


FIGURE N° 2

Réaction d'oxydation de l'adrénaline en présence de cuivre :
Composition du milieu :

- Adrénaline $1,1 \cdot 10^{-5}$ M
- SO_4Cu $5,5 \cdot 10^{-6}$ M
- Tampon phosphate Na 0,05 M pH 7,1
- Sérum physiologique 0,9 % ClNa
- 37° obscurité volume total 100 cc.

Courbe n° 1. — Mesure photométrique, écran bleu vert 4.900 Å (lecture directe).

Courbe n° 2. — Dosage biologique de l'adrénaline.

— Une partie ascendante à concavité tournée vers l'axe des temps durant 13 minutes en moyenne (de 12 à 15), traduisant l'apparition et l'augmentation de la coloration rouge ;

— Une partie parallèle à l'axe des temps durant 1 à 2 minutes ;

— Une partie descendante vers l'axe des temps correspondant à la disparition de la coloration rouge, remplacée par une coloration brun très pâle.

La mesure biologique de l'activité hypertensive de la solution nous permet de construire une courbe descendante vers l'axe des temps (Cf. fig. 2, courbe n° 2) à concavité inférieure, toute activité hypertensive disparaissant en moyenne en 13 minutes.

Si nous comparons les deux courbes, nous constatons que la courbe de disparition de l'activité hypertensive est exactement superposable à la première partie de la courbe photométrique. En 13 minutes, nous obtenons, d'une part, la coloration maximum, d'autre part, la disparition de toute activité hypertensive. Nous pouvons déduire de l'examen de ces deux courbes :

a) que la réaction n'est pas auto-catalytique ;

b) que la substance rouge est dénuée de toute propriété vasomotrice ;

c) que la réaction de destruction de la substance rouge est infiniment plus lente que son processus de formation, et n'intervient pratiquement pas dans les 13 premières minutes du phénomène.

Dans les mêmes conditions, un témoin dans lequel nous n'ajoutons pas de cuivre conserve pendant 1 h. 30 la totalité de son activité hypertensive pour la perdre ensuite avec une extrême lenteur, l'absorption photométrique ne montrant aucune variation pendant plus de 2 heures.

2. — Influence de la concentration en cuivre.

Si, toutes choses restant égales par ailleurs, nous élevons la concentration en cuivre, nous obtenons des réactions beaucoup plus rapides, difficiles à suivre correctement par la méthode

que nous utilisons ; les erreurs de temps deviennent trop importantes. Seul le terme de la réaction peut être surpris. Ainsi, pour une concentration moléculaire en cuivre égale à deux fois la concentration moléculaire en adrénaline, toute activité hypertensive disparaît en cinq minutes. Le maximum de coloration photométrique est atteint de même en cinq minutes.

Par contre, pour des concentrations moléculaires en cuivre plus faibles que la demi-concentration moléculaire en adrénaline, les mesures sont beaucoup plus aisées, la vitesse de réaction

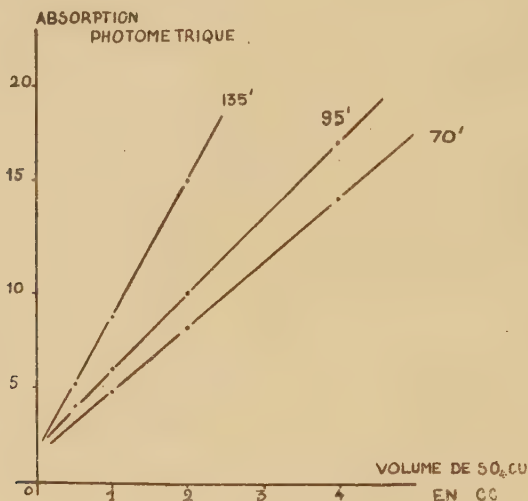


FIGURE N° 3

Influence de la concentration en cuivre. Valeur de l'absorption photométrique (écran bleu vert) en fonction des concentrations en cuivre à différents instants après le début de la réaction (20° — les autres conditions étant semblables à celles de la figure 2).

diminuant régulièrement avec la concentration en catalyseur. Ainsi pour des concentrations en cuivre allant jusqu'à 1/200 de la concentration moléculaire en adrénaline et en opérant à la température du laboratoire pour prolonger le temps pendant lequel la vitesse de réaction est constante, nous avons constaté que l'absorption photométrique était à chaque instant proportionnelle à la concentration en cuivre des solutions. L'activité hypertensive est inversement proportionnelle à cette concentration. (Cf. fig. 3).

3. — Influence de la composition ionique du milieu.

Bouvet signale au cours de ses recherches [38] l'influence accélératrice des halogénures sur l'oxydation de l'adrénaline en présence de cuivre. Nous avons nous-mêmes constaté un ralentissement important de la réaction qui peut être chiffré à 85 % à la quinzième minute, lorsque nous opérons dans un milieu eau bidistillée au lieu de sérum physiologique à 9 p. 1.000 de ClNa .

Ceci est à rapprocher, dans une certaine mesure, des faits remarqués par Madame P. Chaix, qui constate que l'évolution de la réaction d'oxydation de l'adrénaline est différente suivant qu'on s'adresse à un tampon bicarbonaté ou phosphaté. Dans le premier cas, la réaction s'arrêterait au stade adrénochrome, alors que, dans le deuxième cas, elle se poursuivrait jusqu'à la transformation complète de ce corps en mélanines [45].

4. — Influence des conditions physiques d'expérimentation.

a) Température.

La température influence considérablement la vitesse d'oxydation de l'adrénaline en présence de cuivre : alors qu'à 37°, un milieu comprenant une concentration moléculaire du cuivre double de celle de l'adrénaline, s'inactive du point de vue tensionnel et atteint son maximum de coloration en cinq minutes, la même réaction demande trente minutes à 18°. On ne note cependant pas de modifications dans la forme générale de la courbe.

b) pH.

L'influence du pH sur l'oxydation de l'adrénaline est connue depuis longtemps. La figure 1 exprime les résultats expérimentaux que nous avons obtenus avec des solutions tamponnées à pH de 6.5 à 10. Elle traduit l'action freinatrice du pH bas et l'action accélératrice du pH alcalin.

En milieu non tamponné, nous assistons en même temps

que se déroule l'oxydation, à une baisse de pH amenant rapidement un ralentissement important de la réaction. L'interprétation devient très complexe. Les variations de pH observées étant sans rapport avec celles que l'on peut observer dans les milieux biologiques, nous n'en avons pas abordé l'étude.

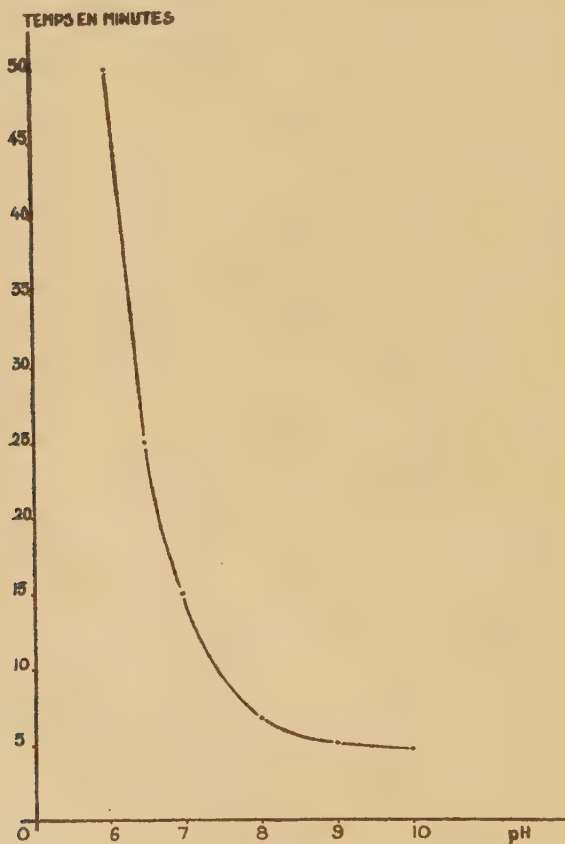


FIGURE N° 4

Influence du pH : temps au bout duquel on atteint le maximum d'absorption photométrique (écran bleu vert) en fonction du pH (les conditions sont les mêmes que celles de la figure 2).

c) Un certain nombre d'autres conditions physiques interviennent dans l'oxydation catalytique de l'adrénaline en présence de cuivre, en particulier la pression partielle d'oxygène, l'éclairement. Les variations de ces paramètres n'intervenant pas directement dans les recherches que nous poursuivons, nous ne les avons pas étudiées.

CAS DE L'ARTERENOL

Nous avons effectué avec l'artérénol les mêmes recherches qu'avec l'adrénaline.

En l'absence de cuivre, une solution d'artérénol au 1/500.000 conserve, comme une solution d'adrénaline tamponnée à pH 7, une activité hypertensive constante pendant un temps plus ou

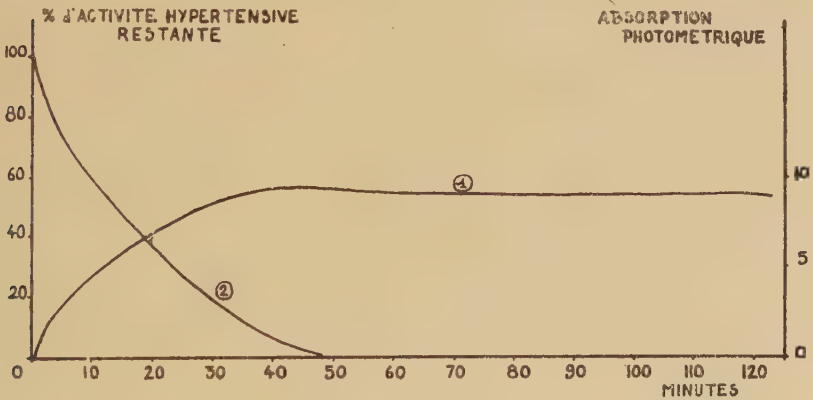


FIGURE N° 5

Réaction d'oxydation de l'artérénol en présence de cuivre :
Composition du milieu :

- Artérénol $1,1 \cdot 10^{-5}$ M
- SO_4Cu $1,1 \cdot 10^{-5}$ M
- Tampon phosphate Na 0,05 M pH 7,1
- Sérum physiologique 0,9 % ClNa
- 37° - Obscurité - Volume total 100 cc.

Courbe n° 1. — Mesure photométrique, écran bleu vert 4.900 Å (lecture directe).

Courbe n° 2. — Dosage biologique de l'artérénol.

moins prolongé, 1 h. 30 au minimum. En présence de cuivre, la solution se colore en rouge, et l'activité hypertensive disparaît au cours d'une réaction qui semble très voisine de celle de l'adrénaline, mais qui évolue avec beaucoup plus de lenteur (Cf. fig. 5). Nous voyons qu'avec une concentration en cuivre égale à la concentration moléculaire de l'artérénol, il faut quarante minutes pour atteindre le maximum de coloration (courbe n° 1) et la disparition de l'activité hypertensive (courbe

n° 2). La mélanisation est aussi plus lente que dans le cas de l'adrénaline, le composé rouge paraissant plus stable.

Les mêmes remarques concernant la concentration en cuivre, la composition ionique du milieu, la température et le pH, ont été faites que dans le cas de l'adrénaline.

En conclusion.

Un certain nombre de conclusions peuvent être tirées de ces résultats expérimentaux :

1° L'adrénaline à l'obscurité n'est pas une substance auto-oxydable (*), en l'absence de catalyseurs. Son oxydation in vitro est due à la formation d'un complexe adrénaline-métal auto-oxydable [46]. La disparition lente de l'activité hypertensive des solutions théoriquement exemptes de métaux lourds, est due à des impuretés à l'état de traces, existant inévitablement dans la verrerie et les produits utilisés.

2° La substance rouge est dénuée de toute activité hypertensive. Il s'agit de l'adrénochrome, comme l'a montré Madame P. Chaix, par l'étude du spectre. Nous n'avons jamais rencontré de dissociation des courbes tensionnelles et photométriques, tendant à prouver l'existence d'un composé rouge doué de propriétés vasomotrices.

3° La réaction n'est pas autocatalytique, la vitesse de réaction diminue en même temps que la concentration d'adrénaline restant (**).

1° La réaction d'oxydation de l'artérénol est du même type que celle de l'adrénaline, mais beaucoup plus lente.

(*) Nous employons ce terme dans le sens défini par Florkin [78] après Szent Giorgyi « c'est-à-dire, une oxydation à laquelle participe l'oxygène de l'air tel quel, inactivité ».

(**) L'addition d'adrénochrome à des solutions d'adrénaline dans les conditions où nous les étudions, ne modifie en rien, comme nous avons pu le constater, la conservation ou la destruction de l'hormone en présence de catalyseurs.

TROISIEME PARTIE

OXYDATION DE L'ADRENALINE IN VITRO PAR LE CUIVRE EN PRESENCE DE PLASMA ET DE FRACTIONS PLASMATQUES

Depuis longtemps déjà, il a été constaté que l'addition de sang, de plasma, d'extraits tissulaires ou d'acides aminés à des solutions d'adrénaline modifiait le phénomène de disparition de l'activité physiologique de ce corps.

Les premiers à avoir signalé ce fait semblent être Oliver et Schaffer [126], qui constatèrent que l'adrénaline ne se détruit pas dans le sang, *in vitro*. Langlois [109] pour sa part, décrit l'absence de destruction de l'adrénaline dans les extraits glandulaires, mais trouve au contraire une vitesse de disparition accélérée en présence de foie et d'intestin [110]. Pour Embden et von Fürth [69] les extraits de viscères et de muscles ont un rôle protecteur. Batteli [23], s'appuyant sur des expériences réalisées *in vivo*, admet que l'adrénaline n'est pas détruite dans le sang. Neujean en 1904 [121], puis Elliott [67] en 1905, confirment le rôle protecteur du sang.

Depuis lors, bien que Sato et Hiroshi [144] reconnaissent au sang non coagulé un certain pouvoir de destruction de l'adrénaline, la plupart des auteurs admettent que cette destruction est plus lente dans le sang qu'en solution aqueuse. L'accord n'est cependant pas fait quant aux structures ou aux substances responsables de cet effet. Si certains pensent que c'est une propriété des protéines en général, d'autres la rejettent sur les acides aminés, les lipides, ou les globules.

Groer et Matula [87] ayant attiré l'attention sur le pouvoir protecteur du blanc d'œuf, Bonhomme [35, 36] compare plasma, liquide céphalo-rachidien et humeur aqueuse. Il constate que la destruction est d'autant moins rapide que le produit utilisé

est plus riche en protéines. Utevski [163], de même, fait jouer le rôle protecteur aux protéines sur lesquelles l'adrénaline serait fixée, cette fixation étant favorisée par l'acide lactique.

Les travaux de Bain Gaunt et Suffolk [17, 18] les conduisent à faire une différence entre le pouvoir protecteur du sérum et du plasma, qui permet en un temps plus ou moins long la destruction totale de l'adrénaline et celui du sang dans lequel la disparition de l'adrénaline ne serait jamais totale, les globules jouant le rôle d'accumulateurs. Ces auteurs, ainsi que Gerdroye et Kossowski [84] mettent en évidence après hémolyse la présence d'adrénaline dans les globules. Werle [175] se montre de cet avis. Pour lui, l'adrénaline protégée par les lipides plasmiques et tissulaires est capable de se conserver plusieurs jours dans les hématies sans être oxydée. Cette oxydation est favorisée par l'acétaldéhyde et les produits intermédiaires du métabolisme des hydrates de carbone. Le passage de l'adrénaline dans les globules serait assez lent. En effet, Stewart et Rogoff [156] trouvent dans le sérum l'adrénaline ajoutée au sang et Cahen [44] montre que 15 minutes après l'addition de l'adrénaline dans du sang, 90 % de cette adrénaline est retrouvée dans le plasma. Cet auteur, d'autre part, après Paget [127], rend la défécation du sang par l'acide trichloracétique responsable de la perte d'une grande partie de l'adrénaline qu'il contient. Cette adrénaline serait entraînée par la précipitation des protéines et particulièrement des protéines globulaires. Colobert [56], dans sa thèse, utilise ce procédé sans décrire cet inconvénient. Il constate, sur du sang humain, une adrénalino-sécrétion globulaire durant une heure après la prise de sang. Le globule serait d'après lui porteur d'une substance adrénalinogène ou peut-être d'adrénaline elle-même fixée à des lipides du stroma.

En 1924, Abderhalden et Gellhorn [1, 2, 3] attirent l'attention sur le fait que l'adrénaline protégée par le sérum et le plasma l'est aussi par les acides aminés qui, d'après ces auteurs, renforcent même l'action de l'adrénaline sur le cœur de grenouille. Ces travaux suscitèrent par la suite de nombreuses recherches. En effet, on avait jusqu'alors lié l'activité protectrice à la nature colloïdale des protéides ou des lipoides. Ekerfors [66] reprit et étendit ces recherches, montrant que l'activité protectrice des acides aminés devait être dissociée de

l'activité renforçante, les concentrations requises dans les deux cas étant différentes. Korflain [105], puis Welch [174] réétudièrent le phénomène en insistant sur l'importance du pH, alors que Wiltshire [176], voyant dans les acides aminés le dénominateur commun présent dans tous les tissus, leur accordait la responsabilité de l'action protectrice. Il invoquait la formation de complexes acides aminés-adrénaline d'où l'adrénaline serait libérée lentement. Fontaine et Huche [79, 80] expliquent pour leur part cette protection par un équilibre phénol-imine quinone-amine, alors que Banga évoque un complexe cuivrique. Parent [128] montre que l'action renforçante des acides aminés ne s'étend pas à l'action calorigénique de l'adrénaline. Citons encore les recherches de Brodd [41] sur l'arginine et de Malafaya Baptista [119, 120] sur les acides aminés en général, confirmant l'activité protectrice.

En présence de catalyseurs de l'oxydation de l'adrénaline (il utilise à cet effet le cuivre), Bouvet [39] étudie un certain nombre de composés inhibiteurs et accélérateurs. Il ne peut, parmi les acides aminés, trouver une relation permettant d'expliquer les phénomènes d'inhibition. Il se borne à constater que les radicaux acides et amines sont indispensables. Par le même procédé d'oxydation cuivrique, il met en évidence un effet accélérateur des protéines de certains milieux biologiques [38] (sérum, albumine de l'œuf) qu'il compare à l'effet des halogénures dans les mêmes conditions.

D'autres hypothèses ont d'ailleurs été envisagées pour expliquer cette protection de l'adrénaline dans le sang et, après les recherches d'Abderhalden [4] et Kreitmair [106], Welsh [174] voyait dans l'acide ascorbique le facteur protecteur de l'adrénaline *in vivo*. Citons aussi les recherches de Malafaya Baptista et Toscano Rico [120], sur la protection par l'acide ascorbique et le glutathion réduit.

TRAVAIL PERSONNEL

Au cours de nos recherches personnelles, nous avons étudié l'inhibition de l'oxydation cuivrique de l'adrénaline par le plasma et le sérum. Nous avons essayé de trouver parmi les

constituants plasmatiques si l'un avait plus spécialement la possibilité de freiner la destruction de l'hormone, et par là de contribuer à son transport dans le milieu intérieur.

Les méthodes utilisées à cet effet sont celles précédemment décrites (cf. page 24), à savoir : étude de l'évolution colorimétrique des solutions à l'électrophotomètre de P. Meunier, écran bleu-vert (4.900 Å) ou bleu (4.300 Å), dosage de l'adrénaline par son action hypertensive sur le chien à moelle détruite, atropiné, chloralosé. Les mêmes précautions, produits purs, nettoyage de verrerie, ont été prises.

PRÉPARATION DES FRACTIONS PLASMATIQUES (OU SÉRIQUES).

Le sang de chien à jeun est prélevé à la saphène, indifféremment sur citrate ou sur héparine, le plus souvent sur héparine pour des questions de commodité technique. Après centrifugation, le plasma surnageant est recueilli pour être utilisé tel quel ou subir d'autres préparations (*).

La délipidation et la préparation des protéines totales pures sont faites au méthylal méthanol, suivant la technique décrite par Delsal [59]. Cette méthode permet, d'une part, l'isolement dans le solvant de toutes les graisses (méthode de dosage), d'une grande partie des sels minéraux, du sucre et des acides aminés, d'autre part, la précipitation totale des protéines non coagulées ni dénaturées. On décante, les restes de solvant sont chassés par évaporation sous vide. On reprend le culot par le sérum physiologique. Il est parfois nécessaire de centrifuger une nouvelle fois pour obtenir une solution protéique parfaitement limpide. Les protéines en solution sont dosées par précipitation au méthylal méthanol et pesée.

Les globulines sont isolées de cette solution ou bien du plasma par relargage au sulfate d'ammonium en solution saturée. En faisant varier les concentrations utilisées, et en procédant par précipitations et redissolutions successives, nous pouvons isoler à l'état pur la totalité ou une partie des globulines. Malgré tous les essais effectués, il nous a été impossible de préparer par cette méthode des albumines plasmatiques pures. Le précipité

(*) La plupart de nos expériences ont été effectuées en présence de plasma. Dans tous les cas où nous l'avons utilisé à titre de comparaison, le sérum sanguin s'est montré doué des mêmes propriétés.

obtenu n'est en effet jamais total, et dans ce cas on peut penser que seules les molécules albumineuses de gros volumes sont précipitées ; d'autre part, il est impossible de les séparer par centrifugation. Nous avons éliminé le recours au filtre comme représentant un facteur d'erreur. Lorsque les recherches ont nécessité de l'albumine plasmatique pure, nous avons utilisé une solution d'albumine à 10 % préparée par électrophorèse.

Le contrôle de la composition et de la pureté des solutions protéiques est effectué par électrophorèse sur papier par comparaison à la courbe électrophorétique du plasma entier.

RESULTATS

1. — Inactivation d'une solution d'adrénaline en présence d'ions cuivre et de plasma entier.

La réaction type d'oxydation de l'adrénaline en présence de cuivre et de plasma entier est réalisée dans un milieu dont la composition est la suivante :

- Adrénaline $1,1 \cdot 10^{-5}$ M
- $\text{SO}_4 \text{ Cu}$ $5,5 \cdot 10^{-6}$ M
- Tampon phosphate Na 0,05 M pH = 7,1
- Plasma hépariné 2 cc. (0,140 gr. de protéines)
- Sérum physiologique (0,9 % de ClNa) Qsp 100 cc.
- La réaction se déroule à 37° et à l'obscurité.

Rappelons que dans les mêmes conditions, plasma excepté, nous obtenions le maximum d'absorption photométrique en 13 minutes, l'activité hypertensive de la solution disparaissant entièrement dans le même temps (fig. 6, courbe 1 et 2).

En présence de plasma, la courbe de l'absorption photométrique correspondant à l'évolution de la destruction de l'adrénaline dans ce cas peut se diviser en quatre parties (fig. 6, courbe 4) :

- Une partie parallèle à l'axe des temps au cours de laquelle

aucune variation de coloration n'est enregistrée, durant, suivant les cas, de cinq à quinze minutes.

— Une partie légèrement ascendante figurée par une droite représentant l'apparition et l'augmentation de la coloration rouge. Le maximum de coloration est atteint en quatre-vingts à quatre-vingt-dix minutes.

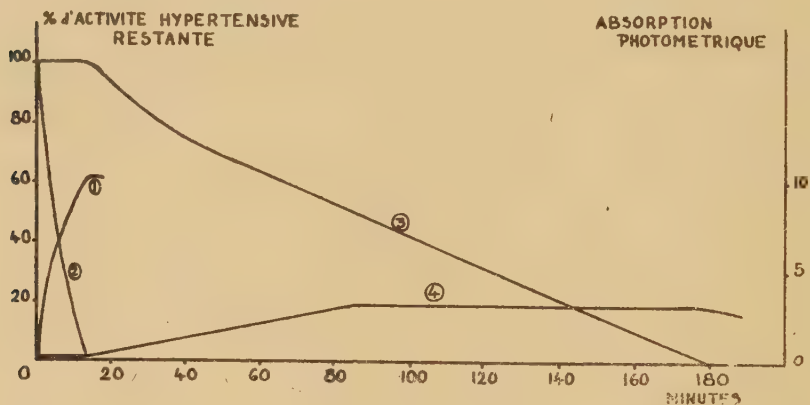


FIGURE N° 6

Réaction d'oxydation de l'adrénaline en présence de cuivre et de plasma.

Composition du milieu :

- Adrénaline $1,1 \cdot 10^{-5}$ M
- SO_4Cu $5,5 \cdot 10^{-6}$ M
- Tampon phosphate Na 0,05 M pH 7,1
- Plasma hépariné 2 cc. (0,140 gr. de protéines)
- Sérum physiologique 0,9 % de ClNa Qsp 100 cc.
- 37° obscurité.

Courbe n° 3. — Dosage biologique de l'adrénaline.

Courbe n° 4. — Mesure photométrique, écran bleu vert : 4.900 Å (lecture directe).

Une partie parallèle à l'axe des temps durant de quatre-vingts à cent minutes, ne montrant aucune variation de l'absorption photométrique.

— Une partie descendante vers l'axe des temps d'une durée de plusieurs heures au cours de laquelle on observe un brunissement de la solution.

En reportant sur le même graphique la mesure de la perte de l'activité hypertensive de l'adrénaline pendant le même temps, nous construisons une courbe montrant essentiellement deux parties (fig. 6, courbe 3) :

— L'une au cours de laquelle l'activité hypertensive est constante et égale à la teneur initiale du soluté plasmatique en adrénaline, durant en gros dix minutes.

— L'autre traduisant la perte de l'activité hypertensive de l'hormone, est une courbe très voisine d'une droite, mais à légère concavité supérieure dans les premières minutes d'évolution du phénomène. L'activité hypertensive demande en moyenne trois heures pour disparaître.

Les deux courbes montrent :

— Que la réaction ne débute pas immédiatement dès l'addition de l'adrénaline dans la solution plasmatique ;

— Que par la suite la destruction est lente et à peu près régulière, la courbe de l'activité hypertensive traduisant seule une vitesse de destruction un peu plus élevée dans les premières minutes ;

En faisant abstraction de la première partie des courbes au cours de laquelle aucune réaction destructive touchant l'adrénaline n'a lieu, on retrouve, plus étalée dans le temps, les mêmes accidents que sur les courbes d'oxydation cuivrique en l'absence de plasma. L'étalement dans le temps peut être interprété dans le cas présent comme étant dû à un ralentissement de la vitesse d'apparition de l'adrénochrome. La réaction de destruction de ce corps intervient de manière sensible avant la disparition totale de l'adrénaline. C'est à l'équilibre des deux réactions d'apparition et de disparition de l'adrénochrome qu'est dû le plateau représentant la troisième partie de la courbe photométrique (N° 4). Au cours de la deuxième partie ascendante, l'adrénochrome se forme plus vite qu'il ne se détruit, alors que la dernière partie descendante représente uniquement la disparition de l'adrénochrome. La courbe de l'activité hypertensive montre qu'à ce moment-là, en effet, il ne reste plus d'adrénaline dans la solution. Vérifiant ceci, il y a lieu de noter que si on fait la même mesure avec l'écran bleu (4.300 Å), l'absorption photométrique, qui est au début à peu près parallèle à celle de l'écran bleu-vert, se dissocie d'elle au bout de cent trente à cent cinquante minutes de réaction, pour suivre une évolution ascendante traduisant l'augmentation dans le milieu de la coloration brune des mélanines.

Dans la plupart de nos expériences, pour des raisons aisément compréhensibles, nous avons utilisé du plasma de sang prélevé à la saphène. Cependant, il est bien connu que l'injection intra-veineuse continue d'adrénaline donne des résultats différant, au point de vue tensionnel, de ceux que l'on observe par perfusion de sang veineux surrénalien, telle qu'elle est réalisée par l'anastomose surrénalo-jugulaire. Dans le premier cas, en effet, le niveau tensionnel s'abaisse progressivement, malgré l'apport régulier d'hormone, alors que dans le second cas, il y a un plateau hypertensif soutenu. Ce fait qui a été constaté souvent au Laboratoire de physiologie de la Faculté de Médecine de Lyon, nous a poussés à étudier *in vitro* le pouvoir protecteur du plasma veineux surrénal. Au cours de ces expériences, nous n'avons pas trouvé de différence entre plasma périphérique et plasma veineux surrénal.

2. — Influence de la concentration en plasma.

Si nous effectuons les mêmes mesures dans une solution contenant 6 % de plasma au lieu de 2 %, nous constatons un ralentissement encore plus net de la réaction. C'est ainsi qu'au bout de trois heures, la solution conserve encore 35 % de son activité hypertensive. La courbe photométrique, conservant toujours le même aspect, est encore plus étalée dans le temps au profit de la troisième phase en plateau. La deuxième partie ascendante est, quant à elle, plus courte, quarante minutes environ, et la dénivellation moins importante. La première partie horizontale est prolongée, semble-t-il, assez proportionnellement à la concentration en plasma.

3. — Influence de la composition ionique du milieu.

Nous avons signalé précédemment, les différences observées dans l'évolution de la réaction, en l'absence de plasma, en milieu eau bidistillée et en milieu chloruré sodique à 0,9 %. Bouvet ayant remarqué comme nous, le ralentissement de la réaction en milieu simple privé d'halogènes, constata dans la

suite de ses expériences que la réaction s'accélère si l'on ajoute du sérum ou du blanc d'œuf au milieu eau bidistillée. Il fait jouer aux protéines un rôle accélérateur comparable à celui des halogènes [39]. Nous avons repris ces expériences. Cependant, nous n'avons jamais remarqué d'accélération de la réaction en milieu eau bidistillée plasma-cuivre, mais toujours un ralentissement par rapport à la réaction eau bidistillée-cuivre. D'après nos recherches donc, l'action freinatrice du plasma sur la réaction d'oxydation de l'adrénaline en présence de cuivre s'exercerait aussi bien en présence qu'en l'absence de chlorure de sodium.

4. — Influence des variations de conditions physiques.

a) *Température.*

La baisse de la température intervient là aussi pour diminuer la vitesse de réaction. A dix-huit degrés, aucune variation photométrique n'est sensible au bout de deux heures. A un degré, au bout de vingt-quatre heures, la solution conserve la totalité de son action hypertensive.

b) *pH.*

L'examen de la figure 7 permet de constater qu'à l'élévation du pH correspond une augmentation de la vitesse d'oxydation de l'adrénaline en présence de plasma. L'aspect de cette courbe est très comparable à celui de la figure 4, page 32. Cette action accélératrice des pH alcalins est même plus sensible en présence qu'en l'absence de plasma. La juxtaposition des deux courbes montre en effet que si elles sont parallèles pour les pH acides ou neutres, elles sont nettement convergentes dans la zone des pH alcalins. A un pH voisin de 10 la réaction évolue de la même manière que le plasma soit présent ou non dans la solution adrénalinée.

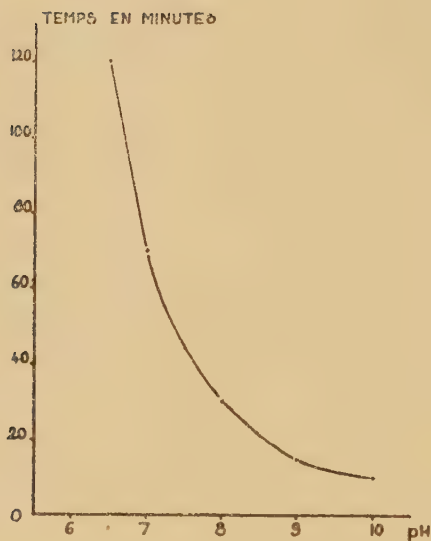


FIGURE N° 7

Influence du pH : temps au bout duquel on a atteint 50 % de destruction en fonction du pH (dosage biologique. Les conditions sont les mêmes que celles de la figure 6).

5. — Influence des différentes fractions plasmatiques.

a) Fractionnement plasmatique.

Le traitement du plasma au méthylal méthanol fournit deux fractions, l'une essentiellement constituée de lipides, sucre, sels minéraux, l'autre de protéines pures.

Nous avons testé ces deux parties. Pour la fraction lipidique, nous nous tenons dans des conditions aussi exactes que possible de proportions, remplaçant dans nos expériences la quantité de plasma témoin par l'extrait au méthylal méthanol de cette même quantité de plasma. La comparaison des courbes montre l'absence totale de protection. La courbe d'oxydation est dans ce cas, exactement superposable à la courbe de dégradation cuivrique de l'adrénaline en milieu simple.

Pour la fraction protéique, nous dosons les protéines plasmatiques et nous remplaçons le plasma par la solution protéique pure à poids égal de protéines. Les courbes obtenues en présence de plasma et en présence de solution protéique

sont exactement superposables (fig. 8, courbes N° 3 et 4). Parfois même, la protection est plus importante en présence de protéines pures qu'en présence de plasma complet. L'électrophorégramme sur papier pratiqué à titre de contrôle qualitatif sur la solution protéique se révèle identique à celui du plasma.

b) Fractionnement protéique.

Par fractionnement protéique au sulfate d'ammonium, suivant les quantités utilisées, nous obtenons, guidés par le contrôle électrophorétique, des solutions de gamma-globulines et de globulines totales.

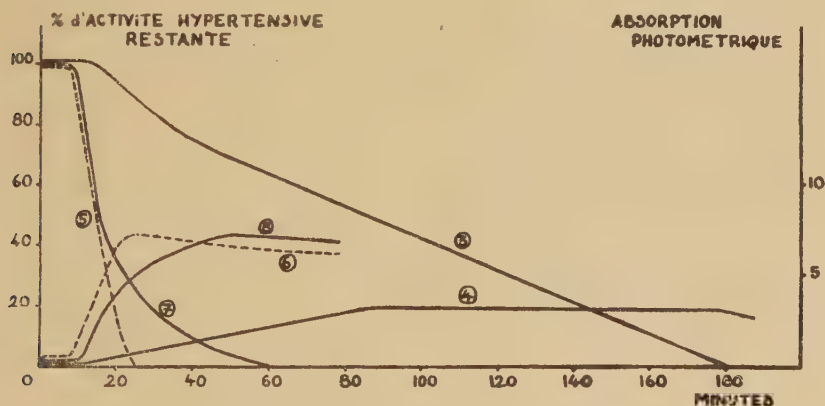


FIGURE N° 8

Evolution de la réaction d'oxydation cuivrique de l'adrénaline en présence de fractions protéiques.

Courbe n° 3. — Dosage biologique. Protéines totales ou albumine

Courbe n° 4. — Mesure photométrique, écran bleu vert : 4.900 Å (lecture directe). Protéines totales ou albumine.

Courbe n° 5. — Dosage biologique. Globulines.

Courbe n° 6. — Mesure photométrique : Globulines.

Courbe n° 7. — Dosage biologique. Dialysat de plasma.

Courbe n° 8. — Mesure photométrique. Dialysat de plasma.

(Les conditions sont les mêmes que celles de la figure 6).

La solution utilisée à poids de globulines égal au poids de protéines totales du témoin plasmatique montre un pouvoir protecteur très inférieur à celui du plasma. Ainsi, en nous reportant à la figure 8, courbes 5 et 6 nous pouvons constater, après un court palier de départ, une chute rapide de l'activité

hypertensive qui s'annule en vingt-trois minutes (20 à 30 minutes). Le maximum de coloration est atteint en dix-huit minutes (15 à 25 minutes), suivi d'un plateau de cinq à dix minutes puis d'une courbe descendante. Les courbes ainsi obtenues montrent que les globulines n'ont pratiquement aucun pouvoir protecteur. Ces courbes ne peuvent cependant pas être superposées à celles de l'oxydation de l'adrénaline en l'absence de protéines (fig. 2, page 28). Elles s'en distinguent essentiellement par l'existence d'un palier de départ parallèle à l'axe des temps, prouvant que la réaction de destruction ne commence pas immédiatement dès l'addition de l'adrénaline dans le milieu.

La préparation d'une solution de globulines pures nécessite plusieurs précipitations au sulfate d'ammonium et redissolutions successives (3 au minimum). Si nous testons la solution de globulines après chaque opération, nous pouvons constater qu'après le premier relargage elle est douée d'un pouvoir protecteur assez important qui diminue au fur et à mesure des redissolutions et précipitations consécutives pour se stabiliser à la troisième dissolution. Il correspond à ce moment à ce que nous avons décrit plus haut (courbes 5 et 6 de la figure 8). Nous attribuons ceci au fait qu'une certaine quantité d'albumine est précipitée en même temps que les globulines au cours du premier relargage. La répétition des opérations élimine peu à peu ces traces d'albumine.

Les mêmes expériences effectuées avec de l'albumine plasmaticque pure préparée par électrophorèse, nous permettent de construire des courbes superposables à celles que nous obtenons avec du plasma total. Comme dans le cas des globulines, la quantité d'albumine correspond en poids à la quantité de protéines totales contenues dans le plasma. Si nous utilisons une solution contenant une quantité d'albumine égale à celle du plasma, le résultat est à peu de chose près identique (fig. 8, courbes 3 et 4).

c) Fractionnement plasmatique par dialyse.

Par dialyse de plasma contre de l'eau bidistillée, à travers une membrane de cellophane, nous obtenons une solution qui, testée dans les mêmes conditions, est, sous certaines réserves, douée d'un pouvoir protecteur appréciable. Ces solutions ne

donnent aucune réaction aux réactifs des protéines (acides, chauffage, méthylal, méthanol), pas de réaction de biuret. La réaction à la ninhydrine est faible mais constamment positive, quoique à des degrés variables. Il est donc logique d'attribuer aux acides aminés ce pouvoir protecteur. L'extrême dilution des solutions nous permet de n'avoir que des dosages très imprécis. Pour établir une relation quantitative, nous prenons un volume de dialysat directement proportionnel à la quantité de plasma qu'il nous sert de témoin. Dans ces conditions, le pouvoir protecteur est négligeable. Si au contraire, nous prenons un volume plus important, correspondant par exemple, à deux ou trois fois le volume directement proportionnel au témoin, nous observons à ce moment-là, un ralentissement très sensible de la réaction assez variable d'ailleurs d'une expérience à l'autre. Nous reportons sur la figure 8 un exemple de courbes obtenues dans ce cas (courbes N^{os} 7 et 8). Elles nous montrent :

— Que la réaction n'a pas lieu instantanément dès l'addition de l'adrénaline, le temps de latence étant d'une dizaine de minutes.

— Que la réaction extrêmement rapide d'abord, se ralentit au fur et à mesure de son déroulement pour devenir infiniment lente dans les dernières minutes.

Dans le cas représenté figure 8, la solution perd 50 % de son activité en quinze minutes, alors que la disparition totale demande soixante minutes. La courbe photométrique nous montre que le maximum de coloration est atteint en cinquante minutes après une courbe ascendante répétant exactement la courbe de perte d'activité hypertensive.

Si d'autre part nous utilisons dans nos expériences le plasma soumis à la dialyse (10 cc. de plasma contre 100 cc. d'eau bidistillée changée à trois reprises pendant 24 heures à 1 degré), nous constatons qu'il n'a absolument rien perdu de ses propriétés protectrices.

En conclusion.

1. — Le pouvoir protecteur du plasma vis-à-vis de l'oxydation cuivrique de l'adrénaline est attribuable aux protéines.

2. — Les différentes fractions plasmatiques sont douées d'un pouvoir protecteur très inégal, les albumines étant de loin les plus actives. Seules en effet, les albumines assurent une protection égale à celle du plasma lorsqu'elles sont utilisées en quantité pondéralement égale aux protéines plasmatiques.

3. — La fraction dialysable du plasma est, elle aussi, douée d'un pouvoir protecteur appréciable que l'on doit attribuer aux acides aminés toujours présents dans cette fraction. Ce pouvoir protecteur est cependant négligeable par rapport à celui des albumines, puisque la dialyse n'altère en rien le pouvoir protecteur du plasma total.

4. — Les globulines sont pratiquement inactives.

5. — Ces différentes fractions nous fournissent des courbes de l'évolution tensionnelle et photométrique d'aspect variable. On retrouve sur toutes, une partie commune montrant que la réaction de destruction ne commence pas immédiatement dès l'addition de l'hormone dans le milieu.

QUATRIEME PARTIE

INTERPRETATION DES RESULTATS

Les modalités de réaction rapportées, appellent un certain nombre de commentaires. En particulier quelle peut être l'importance de ces phénomènes et leur application quant au sort de l'adrénaline in vivo ? Rappelons que le taux du cuivre sérique, très voisin de celui du fer, est de 1,2 mg. à 1,4 mg. par litre [167]. Ce taux varie d'ailleurs dans certains états pathologiques. Le taux d'adrénaline, pour sa part, a été très discuté. Le plasma surrénal montre un taux variable suivant les conditions de prélèvement, autour de 1 mg. par litre. Nous voyons, en fait, que la catécholoxydase, l'adrénaline pourrait, en l'absence de pro-drug, dans l'organisme, sans faire appel à la présence de l'oxydation serait encore plus rapide que in vitro, du fait de la présence d'autres ions lourds, qui, sans avoir les capacités du cuivre, ont cependant sur la destruction de l'adrénaline un rôle catalytique appréciable [46].

Comment interpréter les phénomènes de protection plasmatique ou, plus exactement, comment expliquer l'inhibition de l'oxydation cuivrique de l'adrénaline par l'albumine et les acides aminés ? Le même mécanisme peut-il être invoqué dans les deux cas ? Nous allons essayer de répondre à ces questions.

Deux sortes d'explications peuvent être données à ce phénomène. Albumine ou acides aminés peuvent agir séparément, soit sur le catalyseur, soit sur le substrat ; en effet, hormis le cuivre et l'adrénaline, seules les modifications de la concentration en chlorure de sodium de notre milieu initial peuvent influencer la cinétique de la réaction et il est bien évident que les perturbations apportées sur la concentration en chlorure de sodium du milieu par l'introduction dans 100 cc. de solution de deux centimètres cubes de plasma ou de solution protéique

à la place d'un volume égal de sérum physiologique est incapable de provoquer de telles modifications.

1. — Hypothèse de fixation du catalyseur.

La fixation des métaux lourds par les protéines a suscité de nombreuses recherches [85]. Banga [20] a attiré l'attention sur la possibilité qu'ont les acides aminés de former des complexes cuivriques. Machebœuf et Viscontini [117] montrent, par dialyse de sérum de cheval contre une solution cuivrique, que les protéines de ce sérum sont capables de fixer le cuivre. Cette fixation est si énergique que le cuivre peut être masqué à ses réactifs, en particulier SH_2 , et si importante que le taux normal du cuivre peut passer à 100 mg. par litre. Klotz et ses collaborateurs [101] montrent que la sérum-albumine humaine peut fixer au moyen de ses groupes $-\text{SH}$ les ions lourds, et particulièrement le cuivre. Tanford [159], étudiant le comportement de la sérum-albumine de bœuf en présence de différents métaux, pense que ceux-ci se fixent sur les groupes imidazol (noyau de l'histidine) et beaucoup plus faiblement sur les carboxyles (cette fixation est importante, en particulier pour le cuivre). La formation de ces complexes est évidemment fonction de la présence dans la solution d'un autre anion susceptible de réagir avec le métal. La stabilité des complexes protéines-cuivre a fait l'objet de récents travaux. Gubler et ses élèves [89] utilisant le diéthylthiocarbamate de sodium distinguent deux formes de cuivre dans le plasma, l'une décelable par ce produit, et représentant la plus forte proportion (96 % chez l'homme, 88 % chez le chien), l'autre non dialysable. L'administration de cuivre provoquerait une augmentation de la deuxième fraction alors que l'hypercuprémie de certains états pathologiques serait à relier à la première fraction. Pour sa part, Brendstrup [40] trouve que si le cuivre sérique n'est pas dialysable, le cuivre ajouté à une certaine quantité de sérum est, lui, entièrement ultrafiltrable. La cuproplasmine, protéine cuprique du sérum et du plasma, n'aurait qu'une faible capacité de fixation à l'état normal. Cohn [55, 53] localise cette métallo-protéine au niveau des β globulines chez l'homme

et de l'albumine chez le cheval. Il semble donc que l'on puisse distinguer deux choses : le cuivre physiologique transporté à l'état normal par les cupro-protéines et la fixation du cuivre en excès par les protéines.

Poursuivant leurs recherches, Pasquier et Machebœuf [129, 130] constatent que, cependant, le cuivre des protéines peut en être extrait par dialyse si le liquide de dialyse contient du sulfocyanure, du sérum dialysé ou une solution d'acides aminés. Ils classent ainsi les acides aminés d'après la possibilité qu'ils ont de fixer le cuivre des protéines sériques. Les plus actifs seraient ceux comportant une fonction imine (cf. tableau n° 9). La liaison métaux lourds-acides aminés a aussi fait l'objet des travaux de Albert [8, 9]. Cet auteur, par des mesures potentiométriques, met en évidence les possibilités de formation de complexes acides aminés-métaux lourds et leurs stabilités respectives.

Si maintenant, nous comparons les classifications faites par les auteurs de ces mémoires, en particulier Tanford et Albert, suivant les possibilités qu'ont les différents métaux de former des complexes avec des substances protéiques déterminées, albumine ou acides aminés, nous pouvons constater qu'elles s'accordent à attribuer la première place au cuivre (devant Ni, Zn, Co, Fe). Il n'est donc pas contestable que le cuivre puisse former des complexes avec les grosses molécules protéiques et les acides aminés.

CAS DES ACIDES AMINÉS.

Les résultats expérimentaux que les auteurs donnent quant aux possibilités et à la solidité des complexes du cuivre avec les protéines et les acides aminés, sont assez divergents. Les dialyses de plasma cuivré donnent des résultats variables. Il est vrai que la solidité des complexes est conditionnée en grande partie par la composition du milieu et que les conditions d'expérimentation sont différentes, suivant les auteurs. Dans ces conditions que se passe-t-il dans un milieu aussi divers que le plasma sanguin ?

Bouvet [39], à la suite de ses recherches sur l'inhibition de l'oxydation de l'adrénaline en présence de cuivre, établit une classification des acides aminés d'après leur pouvoir inhibiteur.

Si on compare cette classification avec celles d'Albert et de Machebœuf, c'est-à-dire si on compare la possibilité des différents acides aminés d'inhiber l'oxydation de l'adrénaline d'une part, de fixer les ions cuivre d'autre part, deux constatations peuvent être faites (cf. tableau n° 9) :

<i>I d'après Bouvet</i>	<i>II d'après Albert</i>	<i>III d'après Machebœuf</i>
Histidine	Proline	Histidine
Ac. Aspartique	Tryptophane	Tryptophane
Tryptophane	Norleucine	Oxyproline
Méthionine	Glycocolle	Proline
Ac. Glutamique	Alanine	Tyrosine
Ornithine	Valine	Arginine
Arginine	Tyrosine	Alanine
Leucine	Asparagine	Phénylalanine
Citrulline	Phénylalanine	Méthionine
Valine	Méthionine	Ac. Glutamique
Lysine	Sérine	
Glycocolle	Arginine	
Alanine	Lysine	
	Ornithine	

Tableau n° 9.

Colonne n° I : classification d'après Bouvet des acides aminés suivant leur pouvoir inhibiteur de l'oxydation de l'adrénaline. Du plus au moins inhibiteur.

Colonnes n°s II et III : classification d'après Albert et Machebœuf des acides aminés suivant leur possibilité de formation de complexes avec le cuivre. Par ordre décroissant de possibilité et de stabilité.

Parmi les trois acides aminés venant en tête de ces listes, nous trouvons l'histidine deux fois (non étudiée par Albert), le tryptophane trois fois, la proline deux fois (non étudiée par Bouvet). Il y a donc pour ces trois composés un parallélisme frappant entre leur possibilité de fixer le cuivre et leur pouvoir inhibiteur de l'oxydation de l'adrénaline. Ils ont tous trois dans leur formule la fonction imine NH signalée par Machebœuf comme responsable de la fixation du cuivre.

— Parmi les acides aminés qui, dans ces trois classifications, font suite à ceux que nous venons de citer, aucun parallélisme ne peut être relevé. Ainsi la méthionine ou l'acide glutamique qui sont pour Bouvet des inhibiteurs importants ont de faibles capacités de fixation du cuivre pour Machebœuf, alors que glycocolle et alanine qui sont pour Albert de bons fixateurs du cuivre sont pour Bouvet les plus faibles inhibiteurs.

Pour notre part, nous avons étudié le pouvoir inhibiteur sur nos réactions de six acides aminés de différentes structures.

Pour les quatre d'entre eux qui sont communs aux recherches de Bouvet et aux nôtres, nos deux classifications sont, en gros, concordantes.

Nous pouvons conclure de ces comparaisons, que à part trois acides aminés comportant une fonction imine : tryptophane, histidine, proline, le pouvoir inhibiteur de ces corps ne paraît pas en rapport avec leur capacité de fixer le cuivre.

CAS DES GROSSES MOLÉCULES PROTÉIQUES.

Si, dans le cas des grosses molécules protéiques, nous appliquons ces données et celles de Tanford [159], qui pense que l'albumine fixe le cuivre au niveau des noyaux imidazol, et si nous totalisons les pourcentages des trois acides aminés donnant de forts complexes cuivriques, nous constatons, d'après les données numériques de Cohn [51], qu'ils représentent généralement 5 % des albumines et 8 % des globulines. Nos expériences nous ayant permis de constater que l'albumine avait un pouvoir protecteur incomparablement plus fort que les globulines, nous pouvons conclure que ce mode de protection, peut-être efficace pour ces acides aminés, ne joue pas un grand rôle au niveau des grosses molécules protéiques. La coagulation, d'autre part, ne modifie pas le pouvoir protecteur du plasma, bien que le fibrinogène soit riche en tryptophane.

Un seul acide aminé, pouvant jouer un rôle dans la fixation du cuivre, existe en plus grande quantité dans l'albumine que dans les globulines plasmatiques, c'est la cystine. Pour être active, elle doit être sous forme réduite de cystéine. Effectivement, la cystéine *in vitro* est douée d'un fort pouvoir protecteur. Quel rôle joue-t-elle au niveau des molécules d'albumine ? il est difficile de le dire. Rappelons cependant que Klotz lui accorde une certaine importance. Cependant, les expériences de Machebœuf, qui montre que l'on peut décuivrer une solution plasmatique par dialyse contre une solution d'acides aminés non soufrés, ne sont pas en faveur de l'intervention des groupes-SH qui donnent avec les métaux lourds des complexes très stables, difficilement dissociables.

Il convient de noter de plus que le complexe adrénaline-cuivre nécessaire à l'oxydation de l'hormone est, comme l'a montré Szent-Gyorgyi, pratiquement non dissocié à pH neutre. Sa

structure chimique est voisine de celle des ferro et ferricyanures. On peut donc penser que l'adrénaline peut, avec succès, entrer en compétition avec de nombreux autres composés cuivrés plus dissociés. C'est peut-être la raison pour laquelle l'inhibition par les acides aminés requiert une concentration moléculaire égale à cent ou deux cents fois la concentration moléculaire d'adrénaline. Dans le cas des protéines, ces phénomènes se passent à une autre échelle où trop d'inconnues subsistent pour que l'on puisse essayer d'interpréter.

A l'issue de cette revue, nous pouvons conclure que l'existence certaine de complexes cupro-protéiques est capable d'expliquer dans certains cas (fonction imine) la protection de l'adrénaline par les acides aminés. Dans le cas des protéines, ce mécanisme n'intervient pas et, bien qu'il soit logique d'attribuer aux groupes SH des albumines un rôle fixateur du cuivre, nous nous devons de rechercher si d'autres interprétations ne sont pas simultanément possibles.

2. — Hypothèse d'interaction protéines-adrénaline.

L'existence de complexes adrénaline-protéines a été invoquée depuis longtemps, particulièrement pour expliquer la forme sous laquelle l'adrénaline était stockée au niveau des glandes surrénales. Les termes d'adrénaline masquée, d'adrénaline virtuelle, d'adrénaline liée ont été employés tour à tour par beaucoup d'auteurs. Mouriquand et Leulier [123] considéraient que l'adrénaline formait avec les protéines un complexe d'où elle pouvait être libérée post mortem. Abelous et Argaud [5, 6, 7], de même, distinguaient dans la médullaire et la corticale deux formes d'adrénaline, libre et liée. Devine [63] conteste l'affirmation de ces auteurs quant à l'adrénaline virtuelle surrénalienne. Donini [65], remarquant que l'adrénaline se conserve mieux dans les extraits surrénaux qu'en solution aqueuse, fait intervenir les albumines. Cependant, dit-il, l'adrénaline ne peut être adsorbée aux albumines puisqu'elle dialyse. Schapira [145], après une étude systématique de l'extraction de l'adrénaline de la médullo-surrénale en fonction du pH et de la concentration ionique, « envisage l'hypothèse d'une liaison type salin que l'adrénaline à l'état de cation jusqu'à pH 9,5 contracterait

dans la glande avec un constituant dont la charge s'inverserait pour devenir négative à partir de pH 5,6 ». Cependant, Malmejac [121], par hydrolyse acide ou enzymatique des protéines surrénaliennes, ne constate jamais d'augmentation des propriétés vasomotrices. Il conclut qu'il n'y a pas d'adrénaline fixée sur les protéines.

Dans le cas du sang, Gaddum et Schild [83], auteurs d'une méthode de dosage de l'adrénaline, accusent la précipitation par l'acide trichloracétique ou l'acide métaphosphorique de l'entraînement d'une grande partie de l'adrénaline sur les protéines précipitées. Cahen [41] rapporte les mêmes faits, ainsi que D'Silva [154], Lehmann et Michaelis [113]. Broun et Scheiner [42], constatant que le sérum adrénaliné donne des courbes hypertensives particulières et que le principe vasomoteur n'est pas ultrafiltrable, donnent ceci comme la preuve de la fixation de l'adrénaline sur les protéines plasmatiques. Utevski [163], étudiant l'action du cholestérol, de la lécithine, des protéines, constate que les lipoïdes sont sans effet, alors que les protéines fixent l'adrénaline surtout en présence d'acide lactique. Cette fixation serait inhibée par l'acide monoiodacétique. Wajzer [168], par précipitation au sulfate d'ammonium, voit l'adrénaline disparaître avec les protéines. D'après Annersten et ses collaborateurs [10], puis Lehmann et Kinzius [112], le plasma contient une forme inactive d'adrénaline qu'ils nomment adrénalinogène. Cependant, l'hydrolyse acide ne permet pas à Weil-Malherbe et Bone [169] de déceler dans le plasma une quantité d'adrénaline ou d'artérénol plus importante que celle qu'ils y trouvent par leur méthode de dosage habituel [170, 171]. Rappelons d'autre part que la liaison avec les protéines a été démontrée déjà pour un certain nombre d'hormones, telles que les œstrogènes [141] et la thyroxine [160].

Le rôle des acides aminés a aussi été interprété par Wiltshire [177, 176] comme la preuve de formation de complexes acides aminés-adrénaline d'où l'hormone serait libérée lentement. Welch [174], pour sa part, nie la formation de ces complexes, mais rapporte que l'adrénaline est capable d'oxyder l'alanine ; c'est aussi sur ce mécanisme que s'appuient Fontaine et Huche : l'oxydation de l'acide aminé permettrait le retour de l'orthoquinone au diphénol [79, 80].

Pour la mise en évidence d'éventuelles liaisons adrénaline-albumine, nous avons effectué des expériences de dialyse de deux sortes : d'une part contre de l'eau bidistillée, d'autre part dialyse d'équilibre selon la méthode utilisée par Klotz [102] et par Teresi et Luck [161]. Les méthodes de dialyse ont permis à Barac [21, 22] la mise en évidence de complexes albumine-bilirubine, à Taurog et Chaïkoff [160] de montrer la liaison thyroxine-albumine, à Derouaux d'étudier la liaison sulfamide-protéine [60].

a) DIALYSE CONTRE EAU BIDISTILLÉE.

La dialyse est effectuée sur trois centimètres cubes de plasma adrénaliné contre trente centimètres cubes d'eau bidistillée. Le plasma est introduit dans un petit sac en cellophane plongeant dans l'eau bidistillée. Nous ajoutons de 10 à 30 gammas d'adrénaline par centimètre cube de plasma. Les dialyses s'effectuent à 1 degré ou à la température du laboratoire suivant les cas. Les dialyseurs sont installés à intervalles de temps réguliers, le dosage sur chien à moelle détruite s'effectue pour tous au même moment. Pour chacun, nous estimons la quantité d'adrénaline restant dans le sac. Des contrôles de la teneur en adrénaline du liquide de dialyse sont effectués pour nous assurer de l'absence de destruction. Nous faisons dans les mêmes conditions des témoins de sérum physiologique adrénaliné.

Dans ces conditions, si nous établissons la relation de la perte d'activité hypertensive du plasma adrénaliné, en fonction du temps, nous obtenons la courbe n° 1 représentée fig. 10. La courbe n° 2 objective la perte de l'activité hypertensive du sérum physiologique adrénaliné. Nous constatons que :

— Le contenu du sac perd rapidement son action hypertensive au cours de la première heure. La vitesse de passage se ralentit ensuite pour arriver à un équilibre.

- Le passage de l'adrénaline s'effectue moins vite et l'équilibre est plus tardivement atteint dans le cas du plasma adrénaliné que dans le cas du sérum physiologique adrénaliné.

Nous devons noter de plus que, quelle que soit la proportion d'adrénaline ajoutée au plasma, et dans les limites de pH où

nous l'avons étudiée (de 6 à 8), la courbe obtenue est constamment semblable.

Deux explications sont possibles aux résultats de ces expériences : ou bien l'adrénaline est libre dans la solution plasmatique, ou bien elle est fixée en un complexe adrénaline-protéine en équilibre avec la forme adrénaline libre. Les différences

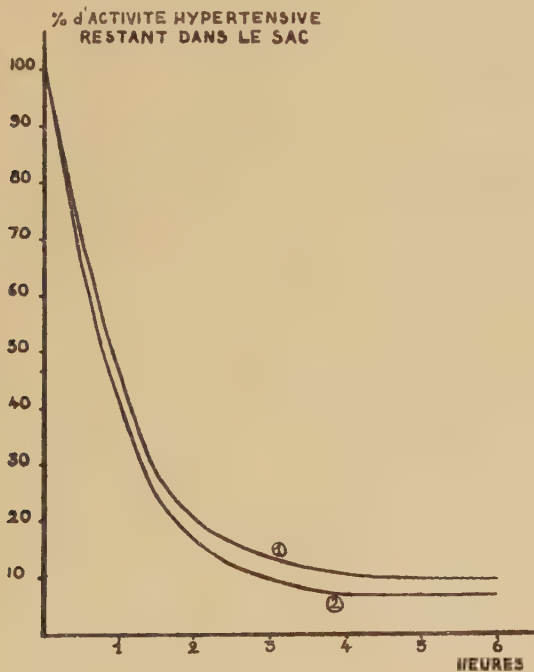


FIGURE N° 10.

Perte d'activité hypertensive du plasma adrénaliné (courbe n° 1) ou du sérum physiologique adrénaliné (courbe n° 2) par dialyse contre de l'eau bidistillée (température du laboratoire).

observées entre le sérum physiologique et le plasma ne sont pas suffisantes pour permettre à ce sujet de tirer une conclusion.

Pour les mêmes raisons que celles que nous avons évoquées page 42, et relative aux différences d'activité entre l'injection d'adrénaline et la perfusion de sang surrénal, et d'autre part, pour rechercher le parallélisme existant entre les expériences in vitro et le transport de l'adrénaline in vivo, nous avons effectué les mêmes expériences sur du plasma de sang veineux surrénal, prélevé avec ou sans excitation splanchnique. Les

courbes relatives à la perte d'activité physiologique de ce plasma par dialyse sont, dans ce cas, exactement superposables à la courbe n° 1, fig. 10. Ceci nous montre que les substances supportant l'activité hypertensive du sang surrénal sont dans le même état physico-chimique que l'adrénaline ajoutée *in vitro* à du plasma périphérique ou injectée dans une veine.

b) DIALYSE D'ÉQUILIBRE.

Dans ces expériences, les sacs de cellophane contiennent 2 cc. de solution plasmatique à 50 % dans du sérum physiologique tamponné à 2,5 % par du tampon phosphate de sodium à concentration moléculaire. La dialyse s'effectue contre 20 cc. de sérum physiologique tamponné dans les mêmes conditions. L'adrénaline est ajoutée dans la solution extérieure au sac pour réaliser une concentration de 10 γ par cc. Les dialyseurs sont abandonnés trois jours à 1 degré (temps nécessaire et suffisant d'après Teresi et Luck pour que l'équilibre se réalise). Au bout de ce temps, on dose sur chien à moelle détruite l'activité hypertensive à l'intérieur et à l'extérieur du sac.

Ces dosages permettent de constater d'une part la perte globale d'environ 10 % de l'activité hypertensive, d'autre part un déséquilibre de la répartition de l'adrénaline entre l'intérieur et l'extérieur du sac. L'activité vasomotrice que l'on dose dans la solution extérieure au sac est égale aux deux tiers de l'activité hypertensive de la solution contenue dans le sac.

Nous devons interpréter ces résultats, que n'explique pas la loi de l'équilibre de Donan, comme la preuve de l'existence d'une liaison entre adrénaline et protéines. Cette liaison adrénaline-protéines existerait en équilibre avec une certaine quantité d'adrénaline libre (ou liée avec de petites molécules donnant un complexe ultrafiltrable).

c) AUTRES EXPÉRIENCES.

Pour tester la liaison adrénaline-protéines, nous nous sommes adressés à d'autres méthodes.

1. — Ainsi nous avons essayé par précipitation au sulfate d'ammonium d'isoler une fraction protéique conservant l'activité hypertensive du plasma adrénaliné initial. Vues dans leur

ensemble, ces expériences ne permettent pas de conclure. En effet, dans tous les cas où une certaine activité hypertensive était retrouvée par injection au chien à moelle détruite, le pourcentage d'adrénaline précipitée avec les protéines était très variable d'une expérience à l'autre. Dans deux cas, même, nous n'avons retrouvé aucune activité hypertensive par injection de protéines précipitées et redissoutes (pour éliminer l'action hypotensive propre de l'injection de protéines à l'animal, nous faisons une injection témoin sans adrénaline et dans tous les cas nous procédions à une désensibilisation rapide). Il faut signaler cependant que dans les cas où une certaine activité hypertensive était retrouvée, elle concernait plus particulièrement les molécules précipitées à forte concentration de sulfate d'ammonium. Ce fait, qui indiquerait une fixation plus importante sur les albumines, vient confirmer les résultats accordant un pouvoir protecteur plus important aux albumines qu'aux globulines.

2. — Nous avons aussi testé cette liaison par électrophorèse sur papier de plasma adrénaliné ou de plasma surrénalien à pH 7 et 8.6. Malgré le grand nombre de tentatives, nous n'avons jamais retrouvé d'activité hypertensive par élution des différentes fractions. Jamais non plus nous n'avons pu mettre l'adrénaline en évidence sur le protéinogramme par apparition de zones de coloration rouge lorsque nous soumettions la bande à l'oxydation cuivrique. Il est vrai que dans ce cas, les doses très réduites sur lesquelles nous opérons rendent difficile l'évaluation de la fraction éventuellement fixée.

3. — Enfin nous avons fait appel à d'autres agents d'oxydation de l'adrénaline ne faisant pas intervenir l'oxygène de l'air et échappant, à la différence du cuivre, à l'inconvénient d'une fixation possible sur les protéines. Nous nous sommes adressés au chlorate de sodium et à l'iodate de potassium. Dans ce cas, il est possible de mettre en évidence une certaine protection plasmatique. Ainsi pour une concentration en chlorate ou iodate dix fois plus forte que la concentration en adrénaline, nous obtenons au bout de soixante minutes 50 % de destruction, alors que les solutions comportant 2 % de plasma conservent encore la totalité de leur activité hypertensive et ne montrent pas de variations de l'absorption photométrique.

Nous référant aux expériences de destruction de l'adrénaline

par le rayonnement ultra-violet [47, 48], nous avons testé aussi dans ce cas le facteur de protection plasmatique. Nous y avons constaté un certain pouvoir protecteur, très faible cependant. La solution sans plasma perd son activité en dix-huit minutes, alors que la solution plasmatique est encore faiblement active au bout de vingt-cinq minutes. Toutefois on peut se demander si dans ce cas le plasma ne joue pas plutôt le rôle d'écran vis-à-vis des radiations.

De toute façon il apparaît que la protection exercée par le plasma se manifeste à des degrés divers dans tous les types d'oxydation que nous avons essayés, à condition que cette oxydation soit suffisamment douce. Etant donné ces résultats et ceux de la dialyse d'équilibre, il est logique d'admettre l'existence d'une forme d'adrénaline liée aux protéines, sans pour cela que son activité physiologique soit perturbée.

Avec quelle fraction protéique a lieu cette liaison ? Sous quelle forme s'effectue-t-elle ? Telles sont les deux questions qui se posent maintenant. A défaut d'expériences plus précises de notre part, la revue de la littérature permet de se rendre compte que ce sont les albumines qui fixent plus particulièrement les petites molécules [85] : bilirubine (Barac et Gernay [22]), les acides gras (Ballou, Boyer, Luck [19]), les naphthoquinones, les antimalariques (Fieser et Heyman), les composés aromatiques (Frédéricq [81]), le rouge de phénol (Grollman [88], Smith [155]), les sulfamides (Schonholzer [153], Davis [57], Derouaux [60]), la pénicilline (Chow [49]), etc... Rarement un nom a été mis sur ces liaisons. Cependant Frédéricq [81], s'appuyant sur des expériences réalisées dans des milieux dont il fait varier la constante diélectrique, conclut à la prédominance des forces de Van der Waals, entre ions et protéines d'une part, ions et solvant d'autre part. Les albumines contracteraient ainsi des liaisons avec les petites molécules se présentant sous forme d'anion. D'après les recherches de Schapira [145], l'adrénaline existerait sous forme de cation jusqu'à pH 9,5, ce qui évidemment est un écueil pour cette hypothèse. Cependant, si nous appliquons à l'adrénaline la théorie de l'oxydation des phénols par les métaux lourds de Szent-Gyorgyi, nous devons admettre que l'adrénaline existe pour une certaine partie tout au moins à l'état d'anion à pH neutre (ceci par dissociation des fonctions phénoliques). Ce

serait cette partie, immédiatement oxydable par le cuivre, qui contracterait des liaisons avec les albumines, expliquant ainsi l'inhibition de la réaction d'oxydation.

Il n'y a pas de place dans cette théorie pour l'interprétation de la protection par les acides aminés. Si nous excluons, pour la plupart d'entre eux, la possibilité de fixer le cuivre comme cause essentielle de cette protection, nous devons reconnaître l'impossibilité dans laquelle nous sommes de donner une explication fondée. Peut-être interviendrait, pour eux, la réaction qui a été invoquée par Fontaine et Huche et que Welch a vérifiée avec l'alanine ; cette réaction consiste en une oxydation de l'acide aminé par l'adrénaline-quinone aboutissant d'une part à une imine, d'autre part au retour à la molécule d'adrénaline.

3. — Hypothèse de fixation simultanée cuivre-adrénaline-protéine.

Des recherches récentes de Klotz [103] ont amené cet auteur à montrer le rôle de médiateur des métaux lourds et en particulier du cuivre dans les liaisons protéines-molécules organiques. Des molécules qui à l'état normal sont indifférentes vis-à-vis des protéines, auraient, en présence de métaux lourds, la possibilité de se lier aux protéines. Klotz attire l'attention sur l'intérêt que peut avoir ce mécanisme dans les phénomènes enzymatiques.

En appliquant ces données au cas qui nous intéresse, nous pouvons très bien imaginer que l'adrénaline puisse se fixer sur le complexe préexistant cuivre-protéine mais que, ne rencontrant pas en la molécule d'albumine la protéine, spécifique de la catécholoxydase, sa destruction soit interrompue à ce stade.

Nous avons cherché à effectuer des dialyses de plasma adrénaliné en présence de cuivre, pour vérifier dans quelle mesure cette théorie pouvait être appliquée dans le cas particulier. Malheureusement, nous nous heurtons à une destruction importante de l'hormone sous l'effet du cuivre, qui dialyse à l'extérieur du sac, ce qui nous empêche de conclure.

Si maintenant nous nous reportons aux descriptions que nous avons données des réactions d'oxydation de l'adrénaline en présence de plasma ou de ses fractions, nous pouvons essayer de voir dans quelle mesure les différentes théories peuvent expliquer le phénomène constaté :

— Nous avons attiré l'attention sur le fait qu'en présence de protéines, la réaction ne commence pas immédiatement dès l'introduction d'adrénaline. Le plateau initial a pour cause, à notre avis, la fixation du cuivre sur les protéines. La réaction ne commencerait qu'au moment où la fraction d'adrénaline libre aurait pu détourner à son profit une partie du cuivre protéique.

— La disparition d'activité hypertensive et l'augmentation de la coloration qui suit ce plateau seraient conditionnées principalement par le phénomène de liaison adrénaline-protéine qui limiterait, dans le cas des molécules non dialysables, l'oxydation de l'hormone. L'oxydation cuivrique ne porterait que sur les molécules d'adrénaline libres en équilibre avec la forme liée. Il en résulterait une constance de la concentration en forme libre au cours de la réaction qui expliquerait la disparition lente d'activité et l'allure linéaire de la courbe.

— Dans le cas des acides aminés ou des dialysats de plasma, la courbe suivant le plateau initial représente peut-être la réaction d'hydro-réduction entre quinone et fonction amine. Rappelons que, en présence de dialysat de plasma, cette courbe offre un aspect assez variable. Dans ces conditions, nous ne pouvons donner d'interprétation fondée.

D'une façon beaucoup plus générale, les faits que nous rapportons semblent prouver que la destruction de l'adrénaline par attaque des fonctions phénoliques conduisant à l'adrénochrome ne peut avoir lieu dans le sang que d'une façon très lente. Si ce mode de réaction existe *in vivo*, il doit faire intervenir d'autres structures.

Les effecteurs, le foie ou d'autres organes ont peut-être la possibilité d'effectuer cette réaction. Il va sans dire que ces expériences n'excluent ou ne confirment en aucune manière l'existence d'autres possibilités de destruction de l'adrénaline telles que la désamination ou la conjugaison.

CONCLUSIONS

I. — La voie de destruction de l'adrénaline *in vivo*, qui a fait l'objet de nombreuses recherches, n'est pas actuellement entièrement élucidée. Un seul processus semble établi expérimentalement de façon indiscutable : celui de l'inactivation et de l'élimination de l'hormone sous forme conjuguée.

II. — *In vitro*, à l'abri des rayons ultra-violets, l'adrénaline n'est pas une substance auto-oxydable en l'absence de catalyseur.

III. — En présence de cuivre, l'adrénaline se transforme en adrénochrome inactif sur la tension artérielle, puis en mélanines ; ceci d'autant plus rapidement que la concentration en cuivre est plus forte, que le pH est plus alcalin, que la température est plus élevée. La réaction n'est pas autocatalytique et ne fournit pas de substances colorées vasomotrices.

IV. — Le plasma sanguin a la propriété de freiner énergiquement l'évolution de la réaction d'oxydation de l'adrénaline en présence de cuivre. Ce pouvoir inhibiteur est dû aux protéines et parmi celles-ci, à l'albumine essentiellement. En comparaison du rôle inhibiteur de l'albumine plasmatique, celui des acides aminés est faible, celui des globulines paraît négligeable.

V. — Le mécanisme de cette inhibition n'est pas univoque. Si l'on peut admettre que le catalyseur est fixé en partie par l'albumine, il paraît certain d'autre part que l'adrénaline, bien que ne contractant pas de liaison forte avec la protéine, est protégée de l'oxydation par un mécanisme physicochimique.

Vu :

Le Doyen,
HERMANN.

Vu :

Le Président de la Thèse,
H. HERMANN.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 14 Novembre 1955.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ.

A. ALLIX.

BIBLIOGRAPHIE

Les numéros entre parenthèses au début des références se rapportent aux pages où sont cités les auteurs.

- 1 (36). ABDERHALDEN (E.) et GELLHORN (E.). — *Pflüg. Arch.* (1924), 203, 42.
- 2 (36). ABDERHALDEN (E.) et GELLHORN (E.). — *Pflüg. Arch.* (1924), 206, 154.
- 3 (36). ABDERHALDEN (E.) et GELLHORN (E.). — *Pflüg. Arch.* (1923), 199, 320.
- 4 (37). ABDERHALDEN (E.). — *Fermentforschung* (1934), 14, 367.
- 5 (54). ABELOUS (J.-E.) et ARGAUD (R.). — *C.R. Acad. Sci. Fr.* (1931), 193, 369.
- 6 (54). ABELOUS (J.-E.) et ARGAUD (R.). — *C.R. Acad. Sci. Fr.* (1932), 195, 399.
- 7 (54). ABELOUS (J.-E.) et ARGAUD (R.). — *C.R. Acad. Sci. Fr.* (1934), 199, 318.
- 8 (51). ALBERT (A.). — *Biochem. J.* (1950), 47, 531.
- 9 (51). ALBERT (A.). — *Biochem. J.* (1952), 50, 690.
- 10 (55). ANNERSTEN (S.), GRONWALL (A.), KOIW (E.). — *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* (1949), 1, 60.
- 11 (17). BACQ (Z.-M.). — *Arch. Internat. Physiol.* (1940), 50, 129.
- 12 (17). BACQ (Z.-M.). — *Pharm. Review* (1949), 1, 1 (220 réf.).
- 13 (17). BACQ (Z.-M.), FISCHER (P.), LECOMTE (J.). — *C.R. Soc. Biol.* (1949), 143, 583.
- 14 (17, 20). BACQ (Z.-M.), FISCHER (P.), LECOMTE (J.). — *C.R. Soc. Biol.* (1949), 143, 1.293.
- 15 (17). BACQ (Z.-M.), FISCHER (P.), LECOMTE (J.). — *Arch. Internat. Physiol.* (1951), 59, 315.
- 16 (17). BACQ (Z.-M.), FISCHER (P.), LECOMTE (J.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.* (1949), 31, 395.
- 17 (36). BAIN (W.-A.), GAUNT (W.-E.), SUFFOLK (S.-F.). — *J. Physiol.* (London) (1936), 87, 8P.
- 18 (36). BAIN (W.-A.), GAUNT (W.-E.), SUFFOLK (S.-F.). — *J. Physiol.* (London) (1937), 91, 233.
- 19 (60). BALLOU (G.-A.), BOYER (P.-D.), LUCK (J.-M.). — *J. Biol. Chem.* (1945), 159, 111.
- 20 (50). BANGA (I.). — *Hoppe Seyler's* (1938), 254, 165.
- 21 (56). BARAC (G.). — *Arch. Internat. Physiol.* (1953), 61, n° 2, 129.

- 22 (56, 60). BARAC (G.) et GERNAY (J.-M.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.* (1949), 31, 129.
- 23 (35). BATTELI (M.-F.). — *C.R. Soc. Biol.* (1902), 54, 1.179.
- 24 (23). BAUR et OBRECHT. — *Z. Physik. Chem.* (1936), 32, 65.
- 25 (16). BEYER (K.-H.). — *J. Pharm. and exp. Therap.* (1941), 71, 151.
- 26 (16, 20). BEYER (K.-H.) et SHAPIRO (S.-H.). — *Am. J. Physiol.* (1945), 144, 321.
- 27 (18). BHAGVAT (K.), BLASCHKO (H.), RICHTER (D.). — *Biochem. J.* (1939), 33, 1.338.
- 28 (23). BHAGVAT (K.) et RICHTER (D.). — *Biochem. J.* (1938), 32, 1937.
- 29 (18). BLASCHKO (H.), RICHTER (D.), SCHLOSSMAN (H.). — *J. Physiol.* (London) (1937), 89, 6P.
- 30 (18). BLASCHKO (H.), RICHTER (D.), SCHLOSSMAN (H.). — *J. Physiol.* (London) (1937), 90, 1.
- 31 (18). BLASCHKO (H.), RICHTER (D.), SCHLOSSMAN (H.). — *J. Physiol.* (London) (1937), 89, 39.
- 32 (18). BLASCHKO (H.), RICHTER (D.), SCHLOSSMAN (H.). — *Biochem. J.* (1937), 31, 2.187.
- 33 (16). BLASCHKO (H.), SCHLOSSMANN (H.). — *J. Physiol.* (London) (1938), 94, 19.
- 34 (16). BLASCHKO (H.), SCHLOSSMANN (H.). — *J. Physiol.* (London) (1940), 98, 130.
- 35 (35). BONHOMME (F.) et BACQ (Z.-M.). — *C.R. Soc. Biol.* (1936), 122, 110.
- 36 (35). BONHOMME (F.). — *Arch. Internat. Physiol.* (1936), 43, 341.
- 37 (23). BOUNTJATJAN (G.-K.) et MKHITARJAN (V.-G.). — *Biokhimiya SSSR* (1948), 13, 225.
- 38 (37, 23, 31). BOUVET (P.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.* (1949), 31, 1.301 et 1.307.
- 39 (37, 43, 51). BOUVET (P.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.* (1951), 33, 601.
- 40 (50). BRENDSTRUP (P.). — *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* (1953), 5, n° 1, 18.
- 41 (37). BRODD (C.-A.). — *C.R. Soc. Biol.* (1925), 93, 203.
- 42 (55). BROUN (D.), SCHEINER (H.). — *C.R. Acad. Sci. Fr.* (1935), 201.
- 43 (18). CAHEN (A.). — *C.R. Soc. Biol.* (1945), 139, 22.
- 44 (36, 55). CAHEN (A.). — *C.R. Soc. Biol.* (1938), 127, 221.
- 45 (24, 31). CHAIX (P.), MORIN (G.-A.), JEZEQUEL (J.). — *Biochimica Biophysica Acta* (1950), 5, 472.
- 46 (24, 34, 49). CHAIX (P.), MORIN (G.-A.), JEZEQUEL (J.). — *Biochimica Biophysica Acta* (1950), 4, 471.
- 47 (19, 27). CHATONNET (J.). — Inactivation et destruction de l'adrénaline. *Thèse Méd.*, Lyon, 1944.
- 48 (27). CHATONNET (J.) et VIAL (J.). — *C.R. Soc. Biol.* (1945), 139, 112.

- 49 (50). CHOW (P.-F.) et Mc KEF (C.-M.). — *Science* (1945), 101, 67.
- 50 (20). CLARK (W.-G.), AKAWIE (R.-I.), POGRUND (R.-S.), GEISSMAN (T.-A.). — *Arch. Exp. Path. Pharm.* (1950), 209, 364.
- 51 (25). CLARK (W.-G.) et GEISSMAN (T.-A.). — *J. Pharm. Exp. Therap.* (1949), 95, 363.
- 52 (16). COHEN (S.-S.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.* (1946), 28, 104.
- 53 (50). COHN (E.-J.). — *Experientia* (1947), 3, 125.
- 54 (53). COHN (E.-J.). — *Erg. der Physiol.* (1931), 33, 781.
- 55 (50). COHN (E.-J.), Mc MEKTIN (T.-L.), ONCELY (J.-L.), NEWELL (J.-M.), HUGUES (W.-L.). — *J. Am. Chem. Soc.* (1940), 62, 3.386.
- 56 (36). COLOBERT (L.). — Quelques aspects de la biochimie de l'adrénaline. *Thèse Méd.*, Bordeaux, 1944-45.
- 57 (60). DAVIS (B.-D.). — *J. Clin. Invest.* (1943), 22, 753.
- 58 (20). DEICHMAN (W.-B.). — *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. U.S.A.* (1943), 54, 335.
- 59 (38). DELSAL (J.-L.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.* (1944), 26, 99.
- 60 (60, 56). DEROUAUX (G.). — *Acta Biol. Belgica* (1943), 3, 170.
- 61 (16). DEROUAUX (G.). — *Acta Biol. Belgica* (1943), 3, 85.
- 62 (16). DEROUAUX (G.). — *Arch. Internat. Pharmacol.* (1943), 69, 205.
- 63 (54). DEVINE (J.). — *Biochem. J.* (1936), 30, n° 2, 1.768.
- 64 (20). DODGSON (K.-S.), GARTON (G.-A.), WILLIAM (R.-T.). — *Proc. Biochem. Soc.* (1947), 41, n° IV.
- 65 (54). DONINI (P.). — *Rass. Clin.* (1938), 37, 185.
- 66 (36). EKERFORS (H.). — *C.R. Soc. Biol.* (1925), 93, 1.162.
- 67 (35). ELLIOT (T.-R.). — *J. Physiol.* (London) (1905), 32, 446.
- 68 (20). ENGEL (H.), EULER (U.-S. von). — *The Lancet* (1950), 2, 387.
- 69 (35). EMBDEN et von FURTH. — *Hofmeister's Beiträge* (1903), 4, 421.
- 70 (20). EULER (U.-S. von). — *Z. Vitam. Horm. Fermentforsch.* (1948-49), 2, 596.
- 71 (20). EULER (U.-S. von) et HELLNER (S.). — *Acta Physiol. Scand.* (1950) (cité par le précédent).
- 72 (17). FISCHER (P.) et LECOMTE (J.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.* (1951), 33, 569.
- 73 (17). FISCHER (P.) et LECOMTE (J.). — *Arch. Internat. Physiol.* (1949), 56, 327.
- 74 (18). FLORENCE (G.) et SCHAPIRA (G.), cité par RANGIER (M.). — *Exposés Annuels de Biochimie Médicale* (Masson, Paris) (1947), 7, 249.
- 75 (15). FLORENCE (G.) et SCHAPIRA (G.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.* (1942), 24, 1.054.
- 76 (15). FLORENCE (G.) et SCHAPIRA (G.). — *Travaux des Membres de la Soc. Chim. Biol.* (1943), 25, 1.190.
- 77 (17). FLORKIN (M.) et BACQ (Z.-M.). — *Arch. Internat. Physiol.* (1943), 53, 247.

- 78 (34). FLORKIN (M.). — Introduction à la Biochimie Générale (Masson, Paris), 1946.
- 79 (37, 55). FONTAINE (T.-H.) et HUCHE (J.). — *J. Physiol. et Path. Gén.* (1941-45), 38, n° 2, 211.
- 80 (37, 55). FONTAINE (T.-H.) et HUCHE (J.). — *C.R. Soc. Biol.* (1943), 137, 201.
- 81 (60). FRÉDÉRICQ (E.). — *Arch. Internat. Physiol.* (1954), 62, 150.
- 82 (18). GADDUM (J.) et KWIATKOWSKI (H.). — *J. Physiol.* (London) (1938), 94, 87.
- 83 (55). GADDUM (J.) et SCHILD (H.). — *J. Physiol.* (London) (1934), 90, 9 P.
- 84 (36). GERDROYE (M.) et KOSSOWSKI (W.). — *C.R. Soc. Biol.* (1930), 105, 409.
- 85 (50, 60). GOLDSTEIN (A.). — *Pharm. Review* (1949), 1, 102 (280 réf.).
- 86 (16, 17). GREEN (D.-E.) et RICHTER (D.). — *Biochem. J.* (1937), 31, 596.
- 87 (35). GROER (V.) et MATULA. — *Biochem. Z.* (1920), 102, 13.
- 88 (60). GROLLMAN (A.). — *J. Biol. Chem.* (1925), 64, 141.
- 89 (50). GUBLER (C.-J.), LAHEY (M.-E.), CARTWRIGHT (G.-E.), WINTROBE (M.-M.). — *J. Clin. Invest. U.S.A.* (1953), 32, n° 5, 405.
- 90 (15). GUNN (A.) et HARRISSON (E.-F.). — *Pharmaceutic. J.* (1908), 80, 513.
- 91 (18). HEIM (F.). — *Arch. Exper. Path. u. Pharmacol.* (1947), 204, 220.
- 92 (25). HERMANN (H.). — *C.R. Soc. Biol.* (1934), 117, 967.
- 93 (25). HERMANN (H.). — *Biol. Med.* (1936), 26, n° 5, 252.
- 94 (25). HERMANN (H.), MORIN (G.), JOURDAN (F.), VIAL (J.). — *Annal. Physiol.* (1937), 13, 1.012.
- 95 (21). HERMANN (H.), VIAL (J.), DELL (P.). — *C.R. Soc. Biol.* (1942), 136, 805.
- 96 (20). HOLTZ (P.), CREDNER (K.), KRONEBERG (G.). — *Arch. Exper. Path. u. Pharmacol.* (1947), 204, 228.
- 97 (16). KEILIN (D.). — *Proc. Roy. Soc. London* (1928), B 104, 206.
- 98 (15). KENDALL (E.). — *Science* (1928), 67, 383.
- 99 (15). KISCH (B.) et LEIBOVITZ. — *Biochem. Z.* (1930), 220, 97.
- 100 (15). KISCH (B.). — *Biochem. Z.* (1930), 220, 84.
- 101 (50). KLOTZ (I.-M.), URQUHART (J.-M.), FIESS (H.-A.). — *J. Amer. Chem. Soc.* (1952), 74, 5.537.
- 102 (56). KLOTZ (I.-M.), WALKER (F.-M.), PIVAN (R.-B.). — *J. Amer. Chem. Soc.* (1946), 68, 1.486.
- 103 (61). KLOTZ (I.-M.) et LOHMMING (W.-C.). — *J. Amer. Chem. Soc.* (1954), 76, 805.
- 104 (18). KOHN (H.-I.). — *Biochem. J.* (1937), 31, n° 2, 1.693.
- 105 (37). KORFLAIN (J.). — *C.R. Soc. Biol.* (1931), 106, 1.274.
- 106 (37). KREITMAIR. — *Arch. Exper. Path.* (1934), 176, 326.

- 107 (20). KRONEBERG (G.) et SCHÜMAN (H.-J.). — *Arch. Exper. Path. u. Pharmacol.* (1950), 209, 350.
- 108 (15). KUBOWITZ (F.). — *Biochem. Z.* (1938), 299, 32.
- 109 (35). LANGLOIS (P.). — *Arch. Internat. Physiol. norm et Path.* (1898), 124.
- 110 (35). LANGLOIS (P.). — *C.R. Soc. Biol.* (1897), 49, 571.
- 111 (23). LAVOLLAY (J.). — Autoxydation des diphénols, en particulier de l'adrénaline. A.S.I. (Herman, Paris), 1943.
- 112 (55). LEHMANN (G.) et KINZIUS (H.). — *Pflüg. Arch. Ges. Physiol.* (1951), 253, 132.
- 113 (55). LEHMANN (G.) et MICHAELIS (H.-F.). — *Arbeitsphysiologie* (1942), 12, 264.
- 114 (19). LEMARCHANDS (H.) et TANCHE (M.). — *C.R. Soc. Biol.* (1955), 149, 123.
- 115 (15). LOEW (O.). — *Biochem. Z.* (1918), 85, 295.
- 116 (15). LOPEZ (J.-M.). — *Ann. Soc. Cient. Argent.* (1926), 101.
- 117 (50). MACHEBŒUF (M.) et VISCONTINI (M.). — *Ann. Inst. Pasteur* (1945), 71, 188.
- 118 (15). MAIWEG (H.). — *Biochem. Z.* (1923) 134, 292.
- 119 (37). MALAFAYA BAPTISTA (A.). — *Arqu. Path.* (1938), 10, 5.
- 120 (37). MALAFAYA BAPTISTA (A.) et TOSCANO RICO (J.). — *C.R. Soc. Biol.* (1935), 120, 45.
- 121 (55). MALMÉJAC (J.), LISSITZKY (S.), BIANCHI (M.), NEVERRE (G.). — *C.R. Soc. Biol.* (1954), 148, 1.394.
- 122 (25). MORVAN (R.). — Documents pour servir à l'étude de la vie sans moelle épinière. *Thèse Méd.*, Lyon, 1936.
- 123 (54). MOURIQUAND (G.) et LEULIER (A.). — *C.R. Acad. Sci. Fr.* (1926), 183, 1.353.
- 124 (35). NEUJEAN (V.). — *Arch. Internat. Pharmacodyn.* (1904), 13, 45.
- 125 (23). OBRECHT. — *Über die Inhibition der Oxydation von Adrenalin.* Feldegg A.G., 1939.
- 126 (35). OLIVER et SCHAFER. — *J. Physiol.* (London) (1895), 18, 273.
- 127 (36). PAGET (M.). — *Thèse de Pharm. Sup.* (1931).
- 128 (37). PARENT (O.). — *J. Physiol. et Path. Gén.* (1941-43), 38, 114.
- 129 (51). PASQUIER (F.) et MACHEBŒUF (M.). — *Ann. Inst. Pasteur* (1950), 79, 121.
- 130 (51). PASQUIER (F.) et MACHEBŒUF (M.). — *Ann. Inst. Pasteur* (1953), 85, 803.
- 131 (18). PHILPOT (F.-J.) et CANTONI (G.). — *J. Pharm. and Exp. Thérap.* (1941), 71, 95.
- 132 (17, 18). PHILPOT (F.-J.). — *Biochem. J.* (1937), 31, n° 1, 856.
- 133 (18). PHILPOT (F.-J.). — *J. Physiol.* (London) (1940), 97, 301.
- 134 (16). PUGH (G.-E.-M.). — *Biochem. J.* (1933), 27, n° 1, 475.
- 135 (16). RICHTER (D.). — *Biochem. J.* (1934), 28, 1.
- 136 (18). RICHTER (D.). — *Biochem. J.* (1937), 31, 2.022.

- 137 (18). RICHTER (D.). — *Biochem. J.* (1938), 32, n° 2, 1.763.
138 (20). RICHTER (D.). — *J. Physiol.* (London) (1940), 98, 361.
139 (20). RICHTER (D.) et TINGEY (A.-H.). — *J. Physiol.* (London) (1939), 37, 265.
140 (20). RICHTER (D.) et Mc INTOSH (F.-C.). — *Am. J. Physiol.* (1941), 135, 1.
141 (55). ROBERT (S.) et SZEGO (C.-M.). — *Endocrinology* (1946), 39, 183.
142 (15). ROEST (J.). — *Biochem. Z.* (1926), 176, 19.
143 (26). RUIZ GIJON (J.). — *Trab. Inst. Cajal. Invest. Biol. Scu. Fiziol. Esp.* (1945), 3, 74.
144 (35). SATO et HIROSHI. — *Tohoku J. Exp. Med.* (1930), 16, 596.
145 (54, 60). SCHAPIRA (G.). — *Bull. Soc. Chim. Biol. Fr.* (1946), 28, 786.
146 (19). SCHAYER (R.-W.). — *J. Biol. Chem.* (1951), 189, 301.
147 (19, 20). SCHAYER (R.-W.). — *J. Biol. Chem.* (1951), 192, 875.
148 (19). SCHAYER (R.-W.). — *J. Biol. Chem.* (1952), 198, 545.
149 (19). SCHAYER (R.-W.) et SMILEY (R.-L.). — *J. Biol. Chem.* (1953), 202, 425.
150 (19). SCHAYER (R.-W.), SMILEY (R.-L.), KENNEDY (J.). — *J. Biol. Chem.* (1953), 202, 39.
151 (16). SCHUTZ (F.). — *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* (1932), 7, 969.
152 (16). SCHUTZ (F.). — *Biochem. Z.* (1933), 265, 282.
153 (60). SCHONHOLZER (G.). — *Klin. Wochschr.* (1940), 19, 790.
154 (55). D'SILVA (J.-L.). — *Biochem. J.* (1937), 31, 2.171.
155 (60). SMITH (W.-W.) et SMITH (H.-W.). — *J. Biol. Chem.* (1938), 124, 107.
156 (36). STEWART et ROGOFF. — *J. Pharm. Exp. Therap.* (1917), 9, 393.
157 (15). SZENT-GYORGY (M.-A.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.* (1938), 20, 846.
158 (15). SZENT-GYORGY (M.-A.) et collaborateurs (BANGA, GERANDAS, LAKI, PAPP, PORGES, STRAUB). — *Hoppe Seyler's* (1938), 254, 147.
159 (50, 53). TANFORD (C.-H.). — *J. Amer. Chem. Soc.* (1952), 74, n° 1, 211.
160 (55, 56). TAUROG (A.) et CHAIKOFF (I.-L.). — *J. Biol. Chem.* (1948), 176, 639.
161 (56). TERESI (J.-D.) et LUCK (J.-M.). — *J. Biol. Chem.* (1948), 174, 653.
162 (20). TORDA (C.-L.). — *J. Pharm. Exp. Therap.* (1943), 78, 331.
163 (36, 55). UTEVSKI (A.-M.). — *Bull. Biol. et Méd. Exper U.R.S.S.* (1938), 5, 75.
164 (15). VACEK (T.). — *C.R. Soc. Biol.* (1927), 97, 1.739.
165 (15). VACEK (T.). — *C.R. Soc. Biol.* (1929), 100, 583.
166 (15). VACEK (T.). — *C.R. Soc. Biol.* (1929), 100, 585.
167 (49). VAN DAMME et VANDENBROUKE (J.). — *C.R. Soc. Biol.* (1945), 139, 81.

- 168 (55). WAJZER (T.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.* (1946), 28, 341.
169 (55). WEIL-MALHERBE (H.) et BONE (A.-D.). — *Biochem. J.* (1954), 58, 132.
170 (55). WEIL-MALHERBE (H.) et BONE (A.-D.). — *Biochem. J.* (1952), 51, 311.
171 (55). WEIL-MALHERBE (H.) et BONE (A.-D.). — *The Lancet* (1953), 264, 974.
172 (15). WEINSTEIN (S.-S.) et MANNING (R.-I.). — *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* (1935), 32, 1.096.
173 (18). WEINSTEIN (S.-S.) et MANNING (R.-I.). — *Science* (1937), 2, 19.
174 (37, 23, 55). WELCH (D.-M.). — *Am. J. Physiol.* (1934), 108, 360.
175 (36). WERLE (E.). — *Die Chimie* (1943), 56, 305.
176 (37, 55). WILTSHIRE. — *J. Physiol.* (London) (1931), 72, 88.
177 (55). WILTSHIRE. — *J. Physiol.* (London) (1930), 69, 24.
178 (18). ZELLER (E.-A.) et BARSKI (J.). — *Expérimentia* (1952), 8, 349.

TABLE DES MATIERES

Introduction	13
Première Partie : Destruction de l'Adrénaline in vivo	15
Deuxième Partie : Oxydation de l'Adrénaline et de l'arterénol en présence de cuivre in vitro	23
Etude bibliographique	23
Travail personnel	24
Troisième Partie : Oxydation de l'Adrénaline in vitro par le cuivre en présence de plasma et de fractions plasmatiques	35
Etude bibliographique	35
Travail personnel	37
Quatrième Partie : Interprétation des résultats	49
Conclusions	63
Index bibliographique	64

